J. Steinhaus.

Histologia Patologiczna.

Część I.

Metody badania mikroskopowego tkanek i płynów patologicznych.

WARSZAWA
DRUK PIOTRA LASKAUERA I S-KI
1905.

Дозволено Цензурою.
Варшава, 29 Октября 1904 года.

Przedmowa

Histologia patologiczna, której wydawnictwo niniejszem rozpoczynamy, składać się będzie z trzech części.

Pierwsza—to krótki zarys metodyki badania mikroskopowego tkanek i płynów patologicznych.

Druga zawierać będzie histologię patologiczną ogólną; trzecia zaś — histologię patologiczną szczegółową.

Treść ilustrować zamierzamy 300 rysunkami.

Książka nasza będzie pierwszym podręcznikiem histologii patologicznej, wydanym w języku polskim, albowiem nawet przekładu z języka obcego dotychczas nie posiadamy.

Czy praca nasza zaradzi w sposób zadawalający oddawna uczuwanej potrzebie tego rodzaju podręcznika, o tem sądzić nie naszą jest rzeczą.

Warszawa, w Grudniu 1904 r. *J. Steinhaus.*

Treść części pierwszej.

Część pierwsza.

Metody badania mikroskopowego tkanek i płynów patologicznych.

WSTĘP.

Znajomość zasad optyki i szczegółów budowy mikroskopu jest rzeczą niezbędną dla przystępującego do badań histologicznych. W pracy niniejszej jednak nie możemy zająć się temi kwestyami, musimy zatem zalecić naszym czytelnikom zwrócenie się do podręczników fizyki dla odświeżenia wspomnień; tutaj zaś zajmiemy się praktyczną stroną kwestyi, mianowicie wskazaniem najlepszych mikroskopów i najpraktyczniejszych kombinacyi soczewek, przyczem postaramy się pogodzić wymagania naukowe z zasobami finansowymi większości pracowników naukowych.

Najlepsze bezspornie mikroskopy wyrabia fabryka C. Zeiss'a w Jenie.

Statywa IV *a* z kondensorem i rewolwerem dla 3 soczewek zadowolnić może, przy subtelnych nawet robotach, wszelkie wymagania. Suche soczewki: AA. i DD.; immerzya olejna $^1/_{12}$ o *Ap.* 1,25 i okulary 2 i 4 będą wystarczającem uzbrojeniem optycznem. Całość kosztować będzie 250 rubli.

Tańsze, ale za to nieco mniej staranne wykończone w szczegółach, choć optycznie równoznaczne są mikroskopy E. Leitz'a w Wetzlar i C. Reichert'a w Wiedniu. Z warsztatów Leitz'a polecić możemy kombinacyę następującą:

Statywa 1*b* z kondensorem i rewolwerem; suche soczewki 3 i 6 immerzya olejna $^1/_{12}$ o *Ap.* 1,30. Okulary 1 i 3. Cena 170 rubli.

U Reichert'a podobne zestawienie, a mianowicie statywa II *a* z kondensorem i rewolwerem, soczewki suche 3 i 7 *a*, immerzya olejna $^1/_{12}$ o *Ap.* 1,20 do 1,25, okulary II i IV, kosztuje rb. 175.

W każdem z tych zestawień znajdują się powiększenia małe (około 50 razy), średnie i duże (przeszło 1,000 razy), więc przy pomocy tych mikroskopów można zarówno oryentować się w ogólnych zarysach, jak i w szczegółach budowy tkanek i pojedyńczych komórek.

Statywy, pochodzące z wyżej przytoczonych fabryk, są bardzo trwałe, tak iż nawet w mniej doświadczonych rękach nie psują się zbyt szybko. O soczewkach tego samego powiedzieć nie można— uszkodzić je bardzo łatwo, ale winne temu nie fabryki, lecz rodzaj wyrobu. Soczewki są przyrządami bardzo złożonymi i delikatnymi, więc obchodzić się z niemi należy bardzo ostrożnie. Nawet nieumiejętne czyszczenie może je zepsuć. Do czyszczenia soczewek należy używać suchego (albo zlekka zwilżonego wyskokiem) płótna. Nawet olejek immerzyjny najlepiej ścierać na sucho. Gdyby olejek przyschł lub do soczewki przylgnął balsam kanadyjski z preparatu, to najlepiej rozpuścić je benzyną, lecz nie ksylolem, gdyż ten ostatni, ulatniając się zbyt wolno, mógłby rozpuścić kit, przy pomocy którego umocowane są szkła w oprawie.

Więc, powtarzamy raz jeszcze, ostrożność jest pierwszym warunkiem, jaki zalecić musimy przy wszystkich manipulacyach z mikroskopem; najlżejsze zanieczyszczenie lub uszkodzenie soczewek mąci obrazy; przypadkowe domieszki, jak pył, włókna roślinne z ręczników i t. p. wprowadzają w błąd niedoświadczonego badacza.

Przechodząc od narzędzia za pomocą którego badać mamy, do przedmiotu badań, więc do zmienionych patologicznie tkanek i wydzielin ustroju ludzkiego, zaznaczyć przedewszystkiem musimy, że, jakkolwiek dla pełności obrazu i dla dokładnego przestudyowania pewnych szczegółów (o których niżej) badanie świeżych preparatów jest nieodzowne, jednakże najważniejsze dane, najdokładniejsze wyniki otrzymać możemy jedynie przez badanie materyału utrwalonego, zabarwionego i zakonserwowanego.

Metody badania świeżych i utrwalonych okazów stanowić będą treść najbliższych rozdziałów.

Rozdział pierwszy.

Badanie świeżych okazów.

W świeżym stanie badać można zarówno płyny jak i tkanki.

Co się tyczy płynów, to przenosić je należy z naczynia, w którem zostały zabrane na starannie oczyszczone szkiełka przedmiotowe za pomocą pałeczki szklanej lub kroplomierza w ilości tak małej, by po przykryciu szkiełkiem pokrywkowem płyn nie wychodził po za granice szkiełka t. j. wypełniał jedynie włosowatą przestrzeń pomiędzy szkiełkiem przedmiotowem a pokrywkowem. Gdyby się okazał nadmiar płynu i szkiełko pokrywkowe pływało na jego powierzchni, wtedy nadmiar ten usunąć należy za pomocą kawałka bibuły, który przykłada się do brzegu kropli płynu. Bibuła nasiąka płynem a kropla się zmniejsza.

Przy nakładaniu szkiełka pokrywkowego uważać należy, by pęcherzyki powietrza nie dostały się pod szkiełko. Dopiąć tego najłatwiej, jeśli się nie kładzie szkiełka pokrywkowego na płask na przedmiotowe, lecz stawia je kantem obok kropli płynu, a potem dopiero powoli przechyla nad kroplą aż do całkowitego zetknięcia z nią. Najdogodniej podtrzymywać szkiełko pokrywkowe przy tym rękoczynie igłą do preparowania.

Jeśli badany płyn jest bardzo gęsty t. j. zawiera bardzo dużą ilość komórek, to dogodniej rozcieńczyć go przed badaniem. Do rozcieńczenia woda czysta, a szczególnie przekroplona jest nieodpowiednia, gdyż w niej komórki podlegają bardzo szybko zmianom kształtu i wyglądu. Zazwyczaj używają 0,75% roztworu soli kuchennej w wodzie przekroplonej, t. zw. fizjologicznego roztworu, który, jak wogóle wszystkie słabe roztwory soli obojętnych, dzięki słabości powstających między nim a komórkami prądów dyfuzyjnych bardzo mało zmienia elementy tkankowe. Lepsze jeszcze usługi oddają płyny, w których normalnie żyją w ustroju komórki, np. płyn osierdzia, płyn okołoplodowy i t. p.

Żeby ochronić płyny te od gnicia należy dodać do nich roztworu jodu (*Jodi* 4.0, *Kali jodati* 6, *Aq. destillatae* 100.0 według recepty Lugol'a) aż do brunatnego zabarwienia i w kilka dni potem przecedzić przez bibułę, zwilżoną roztworem jodu, do naczynia, przemytego również roztworem jodu.

W braku wyżej przytoczonych płynów można zastąpić je t. zw. sztuczną surowicą, przygotowaną według Kroneckera w sposób następujący:

Soli morskiej	. . . .	6,0
Natrii caustici	. . . .	0,06
Wody destylowanej	.	1000,0

Można zamiast *Natrium causticum* wziąć taką samą ilość *Natrii carbonici*, jak to radzą Böhm i Oppel.

Jeżeli zaś badany płyn zawiera bardzo małą ilość elementów komórkowych i wskutek tego jest prawie zupełnie przezroczysty, wtedy należy wyczekać, aż komórki osiadą na dnie naczynia, a następnie pipetką zebrać osad do badania. Częstokroć jednak wyczekiwanie takie jest bardzo długie; wtedy trzeba centryfugowaniem zastąpić zbyt powolne osiadanie.

Badanie tkanek w świeżym stanie jest kłopotliwsze.

Względnie najprostszą metodą jest zeskrobywanie nożem z powierzchni przekroju narządu cząsteczek tkankowych i badanie ich w fizjologicznym roztworze soli kuchennej lub w surowicy.

Ale tylko z miękkich, miąższowych narządów udaje się skrobaniem otrzymać przydatną do badania zawiesinę. W innych przypadkach trzeba rozskubywać tkanki iglami do preparowania, odskubane cząsteczki rozdrabniać jeszcze bardziej, aż się uda otrzymać dostatecznie drobne cząsteczki.

Jeśli w ten sposób nie osiąga się celu, to można pod szkiełkiem uciskać większe cząsteczki trzonkiem igły do preparowania, dopók nie rozgniotą się dostatecznie.

Rozumie się, wszystkie te metody wykluczają możność oryentowania się we wzajemnych stosunkach elementów tkankowych. Tylko skrawki mogą zadowolnić pod tym względem. Skrawki robi się od ręki ostrą brzytwą lubteż za pomocą specyalnego przyrządu—mikrotomu (patrz niżej rozdział II § 5) w tym ostatnim razie trzeba uprzednio zamrozić tkanki przy pomocy rozpylonego eteru lub kwasu węglanego.

Mikrotom daje nierównie cieńsze a przez to i wygodniejsze do badania skrawki; delikatniejsze jednak okazy zostają przez zamrażanie, które jest bądź co bądź bardzo energiczną procedurą, zniszczone.

Skrobane, skubane czy też krajane okazy mogą być badane w obojętnym płynie bez udziału odczynników, lub też poddawane uprzednio działaniu kwasów, ługów i t. p.

Najbardziej rozpowszechnione i istotnie oddające nam nieraz ważne usługi są: kwas octowy (1—3%), kwas solny (5%), wodan potasu (2—10%) i jod.

Kwas octowy wywołuje pęcznienie zarodzi komórek, zprzezroczyszczenie jej, wskutek czego niezmienione jądra komórkowe tem wyraźniej występują.

Krople tłuszczu, zawarte w komórkach również bardzo wyraźnie widać, ponieważ na nie kwas octowy też nie działa; tak samo bakterje i włókna sprężyste.

Śluz zostaje przez kwas octowy strącony w postaci masy włóknistej.

Ług potasowy rozpuszcza wszystkie składowe części komórki prócz tłuszczu.

Bakterye i włókna sprężyste występują jeszcze wyraźniej pod wpływem kwasu octowego.

Kwas solny rozpuszcza sole wapienne.

Jod w postaci roztworu Gram'a (*Jodi puri* 1,0, *Kali jodati* 2,0. *Aq. destillatae* 300,0) barwi na kolor brunatny glikogen. Takie same zabarwienie daje również amyloid; ostatni wszakże przy następnem działaniu 1% kwasu siarczanego niebieszczeje.

Rozdział drugi.

Badanie okazów utrwalonych.

§ I. Utrwalanie i płyny utrwalające.

Utrwalanie okazów ma na celu takie szybkie ich zabicie, by czasu nie starczyło na zmiany, by budowa po śmierci pozostała taką samą, jaką była za życia.

Płyny utrwalające działają na tkanki albo przez odjęcie im wody (wyskok) albo też przez wytwarzanie ze składnikami tkanek nowych połączeń chemicznych, mniej lub bardziej stałych.

Ta ostatnia okoliczność ma w praktyce histologicznej bardzo duże znaczenie.

Dzięki tym nowym związkom utrwalone tkanki lepiej wytrzymują następcze procedury odwodniania, zatapiania i t. d., niektóre elementy histologiczne występują wyraźniej od innych, zostają zróżniczkowane. inne znów elementy nabywają własność zatrzymywania w sobie pewnych barwników, przez co jedynie stają się dostrzegalnymi i t. d.

Ponieważ rozmaite płyny utrwalające działają w tym kierunku nie na wszystkie składniki tkanek i komórek jednakowo, nie posiadamy uniwersalnego środka utrwalającego, któryby we wszystkich przypadkach z równie dobrym skutkiem mógł być użyty, i, zależnie od specyalnych celów, musimy używać raz jednego, innym znów razem innego płynu utrwalającego.

Ogólną zasadą przy utrwalaniu powinno być zużywanie przynajmniej dwadzieścia razy większej objętości płynu, aniżeli wynosi objętość utrwalanego okazu. Aby uzyskać szybkie i równomierne przenikanie płynu utrwalającego, nie należy brać zbyt dużych okazów: 4 c. sześć. nie

powinny być przekroczone, chyba, że za pomocą głębokich nacięć ułatwimy przenikanie płynu w głąb okazów.

Czas potrzebny dla utrwalenia jest dla każdego płynu inny i zależy od łatwości i szybkości, z jaką dany środek przenika w głąb tkanek.

Od czasu, kiedy zaczęto praktykować utrwalanie tkanek dla celów mikroskopowych do dziś dnia wprowadzono bardzo wiele związków i mieszanin utrwalających; niektóre z nich okazały się istotnie dobrymi i są w użyciu dotychczas, inne mniejszem cieszyły się powodzeniem, inne wreszcie bardzo szybko wyszły z użycia.

Pragnąc uniknąć niepotrzebnego balastu, uwzględnię tutaj tylko związki chemiczne i mieszaniny utrwalające, należące do pierwszej kategoryi.

a) **Związki utrwalające.**

1. Formaldehyd (CH_2O)

Gaz, formaldehydem zwany, znajduje się w handlu w roztworze wodnym 40%-owym, który nosi nazwę formaliny albo formolu. Ścisłe odróżnianie formaldehydu od formaliny (lub formolu) jest niezmiernie ważne dla oryentowania się w stężeniu; nieprzestrzeganie tej ścisłości było już nieraz źródłem pomyłek, które popsuły cenne preparaty.

Najlepsze wyniki daje stosowanie 4%-owego formaldehydu do utrwalania.

Dla otrzymania tego stężenia należy dodać 10 części formaliny (czyli formolu) do 90 części wody (wodociągowej).

W roztworze takim mniejsze okazy już po 6 godzinach są utrwalone; większe przeleżeć w nim muszą do 24 godzin. W cieple (około 37°C) utrwalenie następuje nieco szybciej. Z płynu utrwalającego okazy przechodzą bezpośrednio do wyskoku dla odwodnienia.

Olbrzymią zaletą utrwalania formaldehydem jest możność stosowania następczego wszelkich metod barwienia i impregnacyi. Formaldehyd stałby się uniwersalnym środkiem utrwalającym, gdyby nie zmieniał budowy zarodzi komórek, nie zacierał częstokroć szczegółów. Słabsze roztwory nadto wakuolizują protoplazmę.

Dla celów dyagnostyki histo-patologicznej, dla przeprowadzania skomplikowanych barwień rdzenia i mózgu formaldehyd może być rzetelnie poleconym. Jeśli wszakże idzie o szczegóły budowy proto-

plazmy; o wzajemne stosunki różnych składowych jej części, tam homogenizujący wszystko formaldehyd nie powinien być użyty.

2. *Sublimat.*

Sublimat używa się w nasyconym wodnym roztworze z dodatkiem 0,75% soli kuchennej lub 2—5% kwasu octowego.

Ta ostatnia kombinacya daje według naszego doświadczenia (przy 2,5% zawartości kwasu octowego) najlepsze wyniki. Stosować ją można do wszelkich preparatów za wyjątkiem tych preparatów ośrodkowego układu nerwowego, gdzie idzie o zabarwienie myeliny, cylindrów osiowych lub neuroglii.

Sublimat utrwala szybko drobne okazy; dla utrwalania większych preparatów nie nadaje się, ponieważ wgłąb nie przenika dostatecznie. Natychmiast po ukończonem utrwaleniu (½ do 4 godzin) należy okazy wyjąć z roztworu, ponieważ łatwo kruszeją, jeśli dłużej przeleżą w sublimacie.

Po utrwaleniu w sublimacie pozostają w tkankach czarne ziarna tlenku rtęci, które usunąć można za pomocą jodu. W tym celu przemywa się okazy w wyskoku, do którego się dodaje jodyny (T-ra Jodi) aż do wystąpienia brunatnego zabarwienia. Tworzące się połączenia jodu z rtęcią są bezbarwne, więc płyn stopniowo odbarwia się; dolewanie jodyny należy powtórzyć dwa, a nawet i trzy razy, dopóki płyn nie przestanie się odbarwiać, co będzie dowodem, że osadów rtęciowych w tkankach już niema.

3. *Kwas osmowy.*

Używa się kwas osmowy w roztworach słabych, ½—1% w wodzie destylowanej. Pod wpływem światła, a szczególniej pod wpływem pyłu organicznego roztwory psują się (wskutek redukcyi); należy przeto przechowywać roztwory w ciemnych butelkach o szklannych, dobrze doszlifowanych korkach.

Kwas osmowy utrwala momentalnie, jednak wgłąb okazów nie przenika (najwyżej na głębokość 1 mm,); wobec tego tylko cienkie. 2-milimetrowe okazy mogą być przezeń równomiernie utrwalone.

Trzymać okazy w kwasie osmowym należy nie dłużej nad kilka godzin, poczem winny być starannie opłukiwane przez kilka godzin w wodzie destylowanej, skąd już przejdą wprost do 90% wyskoku.

Okazy, utrwalone w kwasie osmowym, barwią się wogóle bardzo trudno; zresztą, okoliczność ta nie jest zbyt wielką wadą, ponie

waż używa się kwas osmowy głównie w tych wypadkach, kiedy idzie o uwydatnienie tłuszczu lub myeliny (zaczernienie przez zredukowany osm).

4. Wyskok.

Wyskok (96% albo bezwodny) przenika szybko i głęboko do tkanek, posiada wszakże tę wadę, że gwałtownie kurczy okazy i wskutek tego zmienia wzajemne stosunki elementów tkankowych; nadto po utrwaleniu w wyskoku niemożliwem jest stosowanie wielu ważnych metod barwienia układu nerwowego. Dla badań dyagnostycznych, gdzie nie idzie o szczegóły cytologiczne, i dla następczego poszukiwania bakteryj w tkankach utrwalanie w wyskoku jest bardzo dogodne.

b) Mieszaniny utrwalające.

1. Płyn Müllera.

Płyn ten składa się z

2 do $2\frac{1}{2}$ g. *Kali bichromici*
1 g. *Natri sulfurici*
100 ccm. wody.

W płynie Müller'a utrwalać można okazy ze wszystkich tkanek; jednakże, jeśli idzie o zachowanie budowy jąder i o figury karyokinetyczne, nie radzimy używać go, ponieważ naprawdę dobrego utrwalenia tych tworów nigdy uzyskać nie można. Za to płyn Müller'a oddaje znakomite usługi przy utrwalaniu układu nerwowego.

W płynie Müller'a preparaty utrwalają się względnie powoli; jak długo należy je trzymać w płynie, patrz rozdział II § 2 — o stwardzaniu.

2. Płyn Orth'a.

Płyn Orth'a składa się z

90 części płynu Müller'a
10 części formaliny

mieszanina musi być przygotowana *ex tempore*, ponieważ szybko się rozkłada. Aschoff modyfikuje płyn ten w sposób następujący:

równe części a) płynu Müller'a
i b) 10—20% formaliny *)

miesza przed użyciem, przez co otrzymuje roztwór słabszy.

Po 3—24 godzin przebywania w płynie okazy są równomiernie utrwalone; po wypłukaniu w bieżącej wodzie (12—24 godzin) przechodzą do wyskoku dla odwodnienia.

Dodatek formaldehydu do płynu Müller'a ma na celu poprawienie jego wad, i cel ten istotnie w znacznym stopniu został osiągnięty, albowiem płyn Orth'a (lub Aschoff'a) dobrze utrwala figury karyokinetyczne i bakterye w tkankach; przy użyciu czystego płynu Müller'a bakterye nie przestają się mnożyć.

Jeszcze lepsze wyniki daje połączenie sublimatu z płynem Müller'a, mianowicie t. zw.

3. *Płyn Zenker'a.*

Skład jego jest następujący:

Sublimati	5,0
Kali bichromici . . .	2,5
Natrii sulfur . . .	1,0
Aq. destillatae . . .	100,0

do których dodać należy 5% *acidi acetici glacialis* przed użyciem.

Małe okazy są już po kilku godzinach dobrze utrwalone.

Po starannem wypłukaniu w wodzie (bieżącej) przenosi się okazy do wyskoku z jodem.

Płyn Zenker'a łączy w sobie wiele zalet płynu Müllera z zaletami sublimatu, i, istotnie, winien być z tego względu zaliczonym do rzędu najlepszych utrwalaczy. Za wyjątkiem niektórych metod neurologicznych można stosować po utrwaleniu w płynie Zenkera wszystkie ważniejsze metody barwienia.

4. *Płyn Flemming'a* (mocniejszy).

Skład tego płynu jest następujący:

*) formalina = 40% formaldehyd, więc 10—20% formalina = 4—8% formaldehyd.

1%. roztworu kwasu chromowego—15 części.
2%. roztworu kwasu octowego . — 4 części.
Acidi acetici glacialis . . . . — 1 część.

Ponieważ mieszanina ta prędko się rozkłada, należy mieć w zapasie tylko składowe części i mieszać je *ex tempore*.

Płyn utrwala drobne okazy w ciągu doby. Po utrwaleniu płucze się okazy w wodzie bieżącej kilka godzin, poczem dopiero można je przenosić do wyskoku.

Płyn Flemming'a uwydatnia wspaniale figury karyokinetyczne. Okazy w nim utrwalone barwią się wogóle bardzo trudno.

§ 2. Stwardzanie i odwodnianie utrwalonych okazów.

O ile stosowanie specyalnych metod barwienia nie wymaga specyalnych również metod uprzedniego traktowania w ten lub ów sposób utrwalonych okazów, o czem przy opisie odpowiednich sposobów barwienia mówić będziemy, stwardzanie okazów łączy się z ich odwodnianiem i uskutecznia się przy pomocy wyskoku. Wyjątek stanowią formalina i płyn Müllera, które są jednocześnie utrwalającymi i doskonale stwardzającymi płynami. Płyn Müllera działa wszakże bardzo wolno; drobne kawałki są dopiero po kilku tygodniach, większe—po kilku miesiącach dostatecznie twarde. Stwardzone w płynie Müller'a okazy muszą być starannie opłukane w wodzie bieżącej (od kilku godzin do kilku dni), zanim przejdą do wyskoku dla odwodnienia; z formaliny zaś przechodzą bezpośrednio do wyskoku.

Nie należy przenosić okazów wprost do mocnego wyskoku w którym by się zbyt gwałtownie skurczyły. Najlepiej rozpocząć od 70% i w ciągu 2—3—4 dni (zależnie od wielkości okazów) stopniowo dojść do 95%, poczem tkanki będą już dostatecznie odwodnione i stwardzone.

Każdorazowe obliczanie ilości wody, którą należy dolać do posiadanego mocnego wyskoku, żeby otrzymać żądane rozcieńczenie jest dość kłopotliwe i zabiera sporo czasu, sądzę przeto, że przytoczenie tablicy Gay-Lussac'a przyniesie korzyść naszym czytelnikom.

Tablica podaje ilość jednostek objętości wody, które należy dolać do 100 jednostek objętości wyskoku posiadanej mocy, by otrzymać wyskok o żądanej mocy.

Żądana moc wyskoku w procentach.	Pierwotna moc wyskoku w procentach.								
	90	85	80	75	70	65	60	55	50
85	6.56								
80	13.79	6.83							
75	21.89	14.48	7.20						
70	31.05	23.14	15.35	7.64					
65	41.53	33.03	24.66	16.37	8.15				
60	53.65	44.48	35.44	26.47	17.58	8.76			
55	67.87	57.90	48.07	38.32	28.63	19.02	9.47		
50	84.71	73.90	63.04	52.43	41.73	31.25	20.47	10.35	
45	105.34	93.30	81.38	69.54	57.78	46.09	34.46	22.90	11.41
40	130.80	117.34	104.01	90.76	77.58	94.48	51.43	38.46	25.55
35	163.28	148.01	132-88	117.82	102.84	87.93	7308.	58.31	43.59
30	206.22	188.57	171.05	153.61	136.04	118.94	101.71	84.54	67.45

Pożądany niekiedy w praktyce pracownianej wyskok bezwodny (przynajmniej 99,5%) można ze słabszego (95%) otrzymywać wsposób następujący. Wypala się siarczan miedzi w porcelanowym tygielku nad lampką spirytusową lub gazową do zupełnej białości, poczem się go proszkuje, wsypuje do wyskoku i flaszkę często wstrząsa. Po kilku dniach siarczan miedzi na nowo niebieszczeje, trzeba więc odcedzić wyskok, dosypać nową ilość wypalonego siarczanu miedzi i powtarzać to do póty, dopóki siarczan nie przestanie nabierać barwy niebieskiej przy zetknięciu z wyskokiem.

§ 3. **Odwapnianie.**

Obecność soli wapiennych w tkankach (patologiczne złogi, zęby kości) uniemożliwiać może niekiedy krajanie okazów dla otrzymywania preparatów mikroskopowych. Koniecznem jest w takich przypadkach rozpuszczenie tych soli, odwapnienie.

Probowano niejednokrotnie łączyć utrwalanie tkanek z odwapnianiem. Wszystkie jednakże stosowane w tym celu płyny albo zmieniały bardzo znacznie tkanki, albo posiadały w bardzo słabym stopniu własności odwapniające.

Najpraktyczniejszem okazuje się oddzielanie odwapniania od utrwalania, stosowanie środków rozpuszczających sole wapienne do tkanek, uprzednio należycie utrwalonych i stwardzonych.

Polecić możemy płyn Ebner'a i płyny, zawierające floroglucynę.

1. Płyn Ebner'a.

Skład jego jest następujący:

Acidi hydrochlorici	2,5
Alcoholi . . .	500,0
Aq. destill. . .	100,0
Natrii chlorati . .	2,5

Płyn ten należy codziennie zmieniać, dopóki tkanki należycie nie zmiękną, tak, iż dadzą się swobodnie krajać nożem. Po ukończonem odwapnieniu przemywa się okazy wodą bieżącą i odwodnia w wyskoku.

2. Płyny zawierające floroglucynę.

Floroglucyna nie rozpuszcza soli wapiennych, posiada wszakże własność ochraniania tkanek od niszczącego działania mocnych kwasów mineralnych. Dzięki temu dodawanie floroglucyny umożliwia użycie mocniejszych, więc szybciej odwapniających roztworów kwasów.

Kahlden doradza kombinacyę następującą:

Rozpuścić 1,0 g. floroglucyny w 10,0 g. czystego, niedymiącego kwasu saletrzanego, nagrzewając ostrożnie; do roztworu (barwy rubinowej) należy po ostudzeniu dodać 100 ccm. wodnego 10%-owego kwasu saletrzanego. Małe kawałki kości już w ciągu kilku godzin zostają odwapnione w tym płynie.

Ponieważ jednak przy stosowaniu tak szybko działających płynów konieczną jest nieustanna kontrola, albowiem zbyt długie przebywanie w nich psuje okazy, a kontrola taka nie zawsze jest możliwa, dogodniej stosować słabsze i wolniej działające roztwory, naprz.

Phlorglucini . .	1,0
Acidi nitrici . .	5,0
Alcoholi . . .	70,0
Aq. destillatae .	30,0

Po gruntownem przemyciu w wodzie bieżącej okazy przechodzą do wyskoku dla odwodnienia.

§ 4. Przepajanie parafiną i zalewanie celoidyną.

Używane obecnie powszechnie do przygotowywania skrawków przyrządy, zwane mikrotomami, wymagają specyalnego przygotowa-

nia utrwalonych okazów, mianowicie przepojenia ich lub otoczenia masą twardą, a łatwo się krającą. W powszechnem użyciu jest obecnie przepajanie parafiną i zalewanie celoidyną.

a) Przepajanie parafiną.

Parafina, której używamy w technice histologicznej jest masą stałą przy ciepłocie pokojowej, topniejącą zaś—zależnie od gatunku—przy ciepłocie 40°—60°C. Roztopioną parafiną przepajamy nasze okazy; po zastygnięciu jej preparat może już być z łatwością krajany.

Żeby przepoić okaz parafiną, należy go przedewszystkiem nasycić płynem, który dobrze rozpuszcza parafinę. Do takich płynów należy chloroform i ksylol. Do jednego więc z tych płynów należy przedewszystkiem przenieść okazy odwodnione przy pomocy wyskoku. Po kilku do 24 godzin (zależnie od wielkości okazu) płyny te nasycą w zupełności tkanki, wyrugowawszy z nich wyskok. Do tej procedury koniecznem jest zupełne odwodnienie tkanek. Przy użyciu zwykłego 96% wyskoku, pozostaje wszakże kilka procentów wody w okazie, które należy uprzednio usunąć albo za pomocą wyskoku bezwodnego (przygotowanie jego patrz rozdział II, § 2, o odwodnianiu) albo też za pomocą płynu, mięszającego się dobrze z ksylolem i wyskokiem, a jednocześnie wchłaniającego nieco wody. Płynem takim jest olej anilinowy (*anilinum purum*). Ze zwykłego wyskoku należy więc okazy przenieść na kilka godzin (dopóki nie staną się zupełnie przezroczystymi i nie opadną na dno naczynia) do aniliny a potem dopiero do ksylolu.

Z chloroformu czy też ksylolu okazy przechodzą wprost do roztopionej parafiny, albo, jeśli są bardzo subtelne, do mięszaniny ksylolu lub chloroformu z parafiną skąd dopiero po kilku godzinach do czystej parafiny. W płynnej parafinie okazy powinny przeleżeć ½ do 6 godzin (zależnie od ich wielkości). Żeby utrzymać parafinę w stanie płynnym, używać trzeba t e r m o s t a t u t. j. przyrządu w wnętrzu którego panuje stale jednakowa ciepłota, dowolnie przez nas obierana. Ponieważ dla celów histologicznych najpraktyczniejszą okazała się parafina, topniejąca przy 50—52°C, nastawiamy termostat na ciepłotę 52° C.

Przepojone parafiną okazy należy wreszcie wraz z otaczającą je parafiną szybko ostudzić.

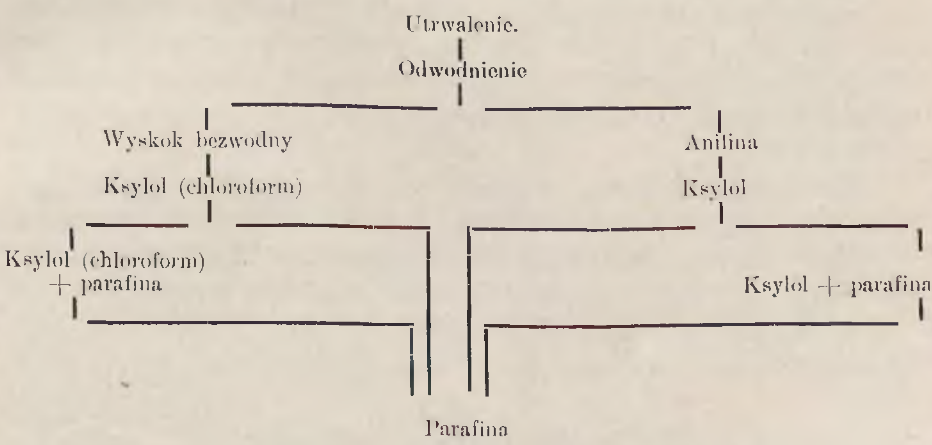
Studzenie okazów z parafiną można uskuteczniać w pudełeczkach, których ściany przed nalaniem parafiny i włożeniem okazów wysmarować należy wazeliną, oliwą lub t. p., żeby parafina po stężeniu nie przylgnęła do ścian i żeby stężony blok parafinowy po ostudzeniu łatwo mógł być wyjęty z pudełka. Zamiast pudełek można

używać w tym samym celu winkelajz dobrze oszlifowanych. Para winkelajz ustawia się na płycie szklannej w ten sposób, by się wytworzyła przestrzeń sześciościenna; wielkość tej przestrzeni zależeć będzie w części od wielkości winkelajz, w części wszakże też i od ich wzajemnego ustawienia. Dla uniknięcia przylegania zbyt ścisłego stężonej parafiny do płyty i do winkelajz wystarczy nachuchać na nie przed wlaniem parafiny i włożeniem okazów; osiadająca przy tem para wodna zabezpieczy od przylegania parafiny i pozwoli z łatwością wyjąć blok stężonej parafiny po ostudzeniu.

Co się tyczy studzenia, to pożądane jest możliwie szybkie załatwienie tej procedury dla uniknięcia krystalizacyi parafiny, utrudniającej jej krajanie. Osiągnąć tego można przez włożenie okazów do zimnej wody z chwilą, kiedy powierzchnia parafiny stężeje, co zabezpieczy głębsze warstwy od przenikania wody.

W pół godziny po wstawieniu do zimnej wody parafina jest już równomiernie stężała i może być krajana.

Streszczając obecnie procedurę przepajania parafiną, przedstawimy ją w sposób następujący:



b) Zalewanie celoidyną.

Celoidyna rozpuszcza się doskonale w mięszaninie z równych części bezwodnego wyskoku i eteru.

Należy mieć pod ręką dwa roztwory celoidyny, rzadszy, gęstości gliceryny (około 5%), i bardziej stężony, jak syrop (około 12%). Okazy po odwodnieniu w wyskoku bezwodnym przechodzą na 24 godziny do mięszaniny wyskoku i eteru w równych częściach, ztąd do rzadkiego roztworu celoidyny również na dobę, i, wreszcie, na kilka dni do gęstej celoidyny. Wszystkie powyższe procedury odbywać się winny przy ciepłocie pokojowej.

Ostateczne zalewanie najwygodniej wykonywać w sześciościennych pudeleczkach, do których wkłada się okaz w tej pozycji, w jakiej najdogodniej będzie potem robić zeń skrawki, poczem dolewa się gęstej celoidyny aż po brzegi. Po kilku godzinach celoidyna stężeje na powierzchni wskutek ulatniania się wyskoku i eteru, wtedy przenieść należy pudełko z okazem do 70% wyskoku. Po 24 godzinach celoidyna całowicie stężeje i można wydobyć cały sześcian z pudełka i przy pomocy gęstej celoidyny nalepić go na takiż sześcian drewniany.

Przechowuje się okazy, zalane celoidyną, stale w 80% wyskoku.

Zalewanie celoidyną ma w porównaniu z przepajaniem parafiną pewne zalety. Przedewszystkiem z celoidyną procedury wszystkie odbywają się przy ciepłocie pokojowej, podczas kiedy parafina wymaga stosowania wysokiej temperatury, szczególnie szkodliwej przy długotrwałem działaniu, jakie byłoby koniecznem dla dokładnego przepojenia wielkich okazów; następnie, przy barwieniu celoidynowych preparatów nie potrzeba usuwać celoidyny, która utrzymuje w skupieniu najkruchsze nawet okazy.

Z drugiej wszakże strony posiada celoidyna dwie wady: procedura zalewania trwa bardzo długo i nie można w celoidynie otrzymywać tak cienkich skrawków jak w parafinie, a bez bardzo cienkich skrawków obecnie żadnych badań histologicznych wykonywać nie można.

Wobec tego sądzimy, że po za wyjątkowymi wypadkami, gdzie zależy na bardzo wielkich skrawkach, lub gdzie metody utrwalania wykluczają stosowanie chloroformu, ksylolu i wysokiej temperatury termostatu, obejść się można bez celoidyny, tem bardziej, że przy ostrożności i wprawie można i w parafinie otrzymywać skrawki wielkich rozmiarów.

§ 5. Krajanie okazów. — Mikrotomy.

Wspomnieliśmy już wyżej (patrz rozdział 1), że po zamrożeniu nawet ze świeżych nieutrwalonych tkanek można otrzymać dość cienkie skrawki.

Z a m r a ż a n i e okazów odbywa się na stoliku mikrotomu, do którego tkanki przymarzają. Zamrażanie osiąga się albo przez r o z p y l a n i e e t e r u albo przez p r ą d k w a s u w ę g l a n e g o. Aparaty odpowiednie dają się zastosować do każdego mikrotomu.

W ostatnich czasach próbowano z powodzeniem zamrażania okazów utrwalonych w formalinie. Ponieważ formalina utrwala bardzo szybko i jednocześnie stwardza, okazy posiadają już po kilku godzi-

nach przebywania w formalinie dość znaczną spoistość, dzięki czemu skrawki po odtajaniu nie rozsypują się i łatwiej dają się przenosić na szkiełka przedmiotowe i barwić, niż takież skrawki, przygotowane z tkanek świeżych, wcale nie stwardzanych.

Prawdziwie dobre skrawki daje jednak tylko krajanie mikrotomem okazów przepojonych parafiną lub zalanych celoidyną.

Okazy w parafinie przykleja się do stolika mikrotomu przez nagrzanie jego powierzchni do ciepłoty topienia się parafiny. Do tak nagrzanego stolika przykładamy sześcian parafiny z okazem, przyczem dolna powierzchnia sześcianu topnieje; jeśli wtedy nagłem pogrążeniem w zimnej wodzie ostudzimy ponownie parafinę, ta ostatnia stężeje szybko i przylgnie mocno do stolika. Z okazami w celoidynie postępuje się nieco inaczej. Zamiast stolików używamy klamr, w których umocowujemy sześciany drzewa, do których przyklejone są okazy, zalane celoidyną. Za pomocą odpowiednich szrub podnosić można okazy ze stolikiem, lub klamrą, podczas kiedy noże mikrotomowe pozostają stale na jednym poziomie. Po każdem podniesieniu w górę okazu nóż, przesuwany ręką lub mechanicznie, zcina z powierzchni jego skrawek, grubością swoją odpowiadający podniesieniu okazu.

Przy krajaniu w parafinie osiągnąć można grubość równą 0,002 mm. (2 μ); w celoidynie najcieńsze skrawki mają 0,015 mm. (15 μ), rzadko 0,010 mm. (10 μ) grubości.

Parafinowe okazy kraje się na sucho; dla celoidynowych należy zarówno nóż, jak i powierzchnię okazów zwilżać 80% wyskokiem.

Nie będziemy tutaj szczegółowo opisywali ani budowy mikrotomów, ani sposobu ich użycia, wskażemy tylko najlepsze fabryki mikrotomów i najpraktyczniejsze ich modele. Jedynie przy praktycznem stosowaniu tych przyrządów można poznać ich właściwości i oswoić się z niemi.

Do celoidynowych preparatów bardzo praktyczne są mikrotomy Junga (z Heidelberga), zbudowane według wskazówek prof. Thoma, w których brzytwę przesuwa się w sankach ręką.

Do krajania okazów parafinowych polecić musimy przedewszystkiem mikrotomy Schanze'go (w Lipsku), zbudowane według pomysłu Prof. Altmann'a, w których nóż przesuwa się mechanicznie.

Dla okazów drobnych o tkankach niezbyt różnorodnych (np. dla zarodków), szczególnie jeśli chodzi o nieprzerwane serye skrawków parafinowych, można też z korzyścią posługiwać się mikrotomem Zimmerman'a w Lipsku pomysłu prof. Minot,

różniącym się od wszystkich innych tem, że jego nóż jest nieruchomy, a mechanicznie przesuwa się preparat.

Do wszystkich mikrotomów można zastosować przyrządy do zamrażania.

Powszechnie używane są dotychczas przyrządy do zamrażania eterem, wyrabiane przez wszystkie fabryki. B e c k e r w Getyndze zbudował niedawno aparat do zamrażania kwasem węglanym, który w praktyce okazał się bardzo dogodnym.

Noże do wszystkich mikrotomów dostarcza w najlepszym gatunku W a l b w H e i d e l b e r g u.

Ceny mikrotomów wahają się zależnie od wielkości ich pomiędzy 100 a 150 rublami, wliczając w to już noże i inne dodatkowe przyrządy.

§ 6. Przechowywanie skrawków.

Przygotowane za pomocą mikrotomu s k r a w k i przechowujemy na płytkach szklanych, t. zw. s z k i e ł k a c h p r z e d m i o t o w y c h i pokrywamy cieniutkiemi s z k i e l k a m i p o k r y w k o w e m i, przyczem cała przestrzeń pomiędzy obydwoma szkiełkami powinna być wypełniona przezroczystą zastygającą masą albo płynem przezroczystym, które mają zabezpieczać okazy od wysychania. Jeśli przestrzeń wzmiankowana zostaje wypełniona płynem, to dla utrzymania szkiełka pokrywkowego w niezmiennem położeniu należy brzeg jego obwieść warstwą szybkoschnącego lakieru.

Bardzo rzadko wszakże skrawki bezpośrednio przychodzą pod szkiełko pokrywkowe. Pokrycie szkiełkiem jest zazwyczaj ostatnim aktem zawiłych i długotrwałych częstokroć procedur.

Ponieważ procedury te są nieco odmienne, jeśli okazy były przepojone parafiną, od tych jakich używamy dla mrożonych lub celoidynowych okazów, rozpatrzymy je oddzielnie.

S k r a w k i p a r a f i n o w e u m o c o w u j e się, przedewszystkiem n a s z k i e ł k a c h p r z e d m i o t o w y c h. Uskutecznia się to za pomocą w o d y lub słabego (30%) w y s k o k u. Kroplę wody lub wyskoku puszcza się na szkiełko z kroplomierza lub za pomocą pędzla i na nią pędzlem przenosi się skrawek. Jeśli skrawek był zwinięty lub zmarszczony, co się często zdarza, należy z l e k k a n a g r z a ć wodę (lub wyskok) i skrawek w zupełności się wyprostuje, poczem przez nachylenie szkiełka usuwa się nadmiar wody a kawałkiem bibuły szwedzkiej, zmoczonej w wodzie, przyciska się skrawek mocno do szkiełka.

Po doszczętnem wyschnięciu wody skrawek tak szczelnie przylega do szkiełka, że rozpuszczenie parafiny i przeprowadzenie przez

całe szeregi rozmaitych płynów nie pociąga za sobą oddzielania się jego, o ile tylko okaz nie był utrwalony w płynach, zawierających przetwory chromowe lub osmowe. W tym ostatnim razie zamiast wody lub spirytusu należy brać 1% roztwór wodny białka kurzego jajka. Ale i on czasami zawodzi. Wtedy uciec się należy do złożonej wprawdzie, ale zupełnie pewnej metody Altmann'a. Altmann oblewa szkiełka przedmiotowe rozrzedzoną traumatycyną *) (1 część traumatycyny na 25 części chloroformu), zlewa nadmiar płynu i po ulotnieniu się chloroformu nagrzewa szkiełko bardzo silnie nad płomieniem lampki Bunsen'a. Na tak przygotowane szkiełko puszcza kroplę roztworu fotoksyliny w acetonie i wyskoku (1 gram fotoksyliny rozpuszcza się w 25 gramach acetonu i tego płynu 5 ccm. rozcieńcza się 20 ccm. wyskoku bezwodnego); na nią nakłada się skrawek i przyciska się go bibułą szwedzką do szkiełka. Po ulotnieniu się acetonu i wyskoku należy jeszcze rozgrzać szkiełko aż do rozpuszczenia parafiny. Tak umocowane skrawki nie oddzielają się od szkiełek.

Ponieważ parafina jest niedostatecznie przezroczysta i przenika nawskroś okazy, pozostawienie jej przeszkadzałoby przy badaniu mikroskopowem; usuwamy ją też zawsze przez pogrążenie szkiełka w naczyniu z ksylolem lub przez polanie szkiełka tym płynem z kroplomierza. Ksylol szybko rozpuści parafinę i, o ile nie zamierzamy barwić skrawków, możemy już pokryć je szkiełkiem pokrywkowem, puściwszy uprzednio na szkiełko przedmiotowe na miejsce, gdzie przymocowane są skrawki, kroplę nieco rozrzedzonego ksylolem balsamu kanadyjskiego, który nadaje się szczególnie do tego, ponieważ po wyschnięciu pozostaje przezroczystym i posiada wykładnik łamliwości przybliżony do wykładnika łamliwości szkła; balsam kanadyjski przepoi skrawek i wypełni całą przestrzeń pomiędzy szkiełkiem pokrywkowem a przedmiotowem.

Jeśli pragniemy zabarwić skrawki przed pogrążeniem w balsamie, to musimy, po rozpuszczeniu parafiny ksylolem, usunąć ostatni wyskokiem. Jeśli używamy spirytusowych roztworów barwników, to, szkiełka z wyskoku mogą być wprost do barwnika przenoszone; jeśl zaś—jak to najczęściej bywa—barwniki są rozpuszczone we wodzie należy przed barwieniem usunąć ze skrawków wyskok przez opłukanie szkiełka we wodzie.

Po ukończeniu barwienia, ewentualnem zróżniczkowaniu i odbarwieniu usuwa się znów wodę ze skrawków wyskokiem, przemywa wyskokiem bezwodnym lub olejkiem anilinowym (zależnie od rodzaju

---

*) Traumatycyna jest to roztwór jednej części gutaperki w 6 częściach chloroformu.

barwienia), opłukuje wreszcie ksylolem, poczem już może nastąpić pogrążenie w balsamie kanadyjskim i pokrycie szkiełkiem. W tych nielicznych przypadkach, kiedy barwniki nie znoszą zetknięcia z wyskokiem, można przechowywać skrawki w glicerynie; brzeg szkiełka musi wtedy być obwiedziony lakierem zarówno dla zabezpieczenia szkiełka od zsuwania się z właściwego miejsca jak i dla uniemożliwienia wchłaniania wody z powietrza do gliceryny, wszelkie bowiem rozrzedzenie gliceryny wodą zmniejsza jej zdolność konserwowania okazów w niezmienionym stanie. Zamiast gliceryny używają też nasyconego wodnego roztworu octanu potasu.

Z okazami celoidynowymi rzecz się ma nieco inaczej. Przedewszystkiem naklejanie skrawków rzadko ma miejsce; najczęściej odbywają się wszystkie procedury barwienia, odbarwiania i t. d. w miseczkach z odpowiednimi płynami—skrawki przenosi się z jednej miseczki do drugiej przy pomocy szpadelków. Jeśli pragnie się jednak nakleić skrawki celoidynowe, to radzimy użyć prostej metody Summers'a, która w praktyce okazuje się bardzo dogodną. Skrawki po opłukaniu w 95% wyskoku układa się na szkiełku przedmiotowem, które się wstawia do zamkniętego naczynia o atmosferze, nasyconej eterem. Celoidyna szybko mięknie i staje się zupełnie przezroczystą; wtedy przenosi się szkiełko do 95% wyskoku, gdzie celoidyna znów stwardnieje, a skrawki mocno przylgną do szkiełka. Jeśli skrawki mają być barwione na szkiełkach, to lepiej przed przeniesieniem ich na szkiełka przedmiotowe pokryć te ostatnie warstwą kolodyum.

Skrawki celoidynowe nienaklejone, przechowywane w spirytusie 80%, przechodzą ztamtąd wprost do barwników, jeśli te ostatnie są rozpuszczone w wyskoku, lub też przed barwieniem przemywają się w wodzie przekroplonej, jeśli używamy wodnych roztworów barwników. Po zabarwieniu następuje odwodnienie w wyskoku, acz niezupełne, gdyż dla uniknięcia rozpuszczenia celoidyny użyć należy wyskoku nie więcej niż 96%. Również ze względu na rozpuszczalność celoidyny unikać należy wszelkich olejków eterycznych i aniliny, a najpraktyczniejszem okazuje się przemywanie skrawków w mięszaninie 1 części kwasu karbolowego i 3 części ksylolu, poczem może nastąpić ostateczne opłukanie w czystym ksylolu, przeniesienie na szkiełko i pogrążenie w balsamie kanadyjskim pod szkiełkiem pokrywkowem.

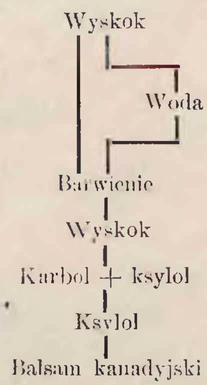
Jeśli celoidynowe skrawki zostały naklejone na szkiełkach to można mięszaniną wyskoku i eteru rozpuścić celoidynę i po wypłukaniu w wyskoku traktować tak samo jak skrawki parafinowe.

Streszczając procedury, jakim podlegać muszą skrawki, jeśli mają być przechowywane, przedstawimy je w poniższych tabelkach.

Skrawki parafinowe.



Skrawki celoidynowe.



Skrawki mrożone traktuje się wogóle tak samo jak celoidynowe nienaklejone, wszakże z większą ostrożnością, ponieważ bardzo łatwo rwą się i rozsypują przy przenoszeniu z miseczki do miseczki lub na szkiełko przedmiotowe.

Rozdział trzeci.

Barwienie.

Jeśli się bada pod mikroskopem niezabarwione tkanki, to odróżnić można tylko niewiele szczegółów, ponieważ wtedy jedynie różnice wykładnika łamliwości pojedynczych składników tkanek i komórek umożliwiają ich odróżnianie, a różnice łamliwości są po większej części niewielkie.

Dopiero przy sztucznem zabarwieniu elementów tkankowych występują wyraźnie pojedyncze części składowe, zatrzymujące w sobie ten lub ów barwnik wyłącznie albo przynajmniej silniej od innych.

W ciągu ostatnich lat pięćdziesięciu, korzystając z postępów chemii organicznej, zastosowano do celów badania mikroskopowego wielką ilość barwników, przeważnie anilinowych; jedne okazały się istotnie praktycznymi, inne mniej; pierwsze znalazły szerokie zastosowanie, podczas kiedy ostatnie tylko krótki czas były w użyciu i musiały ustąpić miejsca lepszym. Stworzono też już cały szereg teoryj, które miały tłomaczyć działanie rozmaitych barwników.

Nie będziemy się wdawali na tem miejscu ani w roztrząsanie tych teoryj, ani w klasyfikacye mniej lub bardziej naukowe barwników i metod barwienia, lecz przejdziemy wprost do przedstawienia najpraktyczniejszych metod, zaznaczywszy tylko zgóry, że wszystkie przytoczone przez nas sposoby barwienia, winny być zastosowywane do skrawków, nie do samych okazów, za wyjątkiem jedynie kilku sposobów, przy opisie których wyraźnie wskażemy, że służą wyłącznie czy też nadają się również do barwienia okazów *in toto.*

W opisie naszym trzymać się będziemy porządku następującego: na pierwszem miejscu postawimy sposoby barwienia, mające szerokie zastosowanie, będące w ciągłym użytku w pracowni, później sposoby stosowane w pojedyńczych przypadkach dla odróżnienia pojedyńczych składników tkanek ze szczególnem uwzględnieniem produktów patologicznych, wreszcie przytoczymy najważniejsze sposoby barwienia bakteryj w sokach i tkankach ustroju.

§ I. Sposoby barwienia ogólne.

A) Barwienia pojedyncze.

1. Karmin.

Dawniej bardzo rozpowszechnione barwienie karminem, dziś już mniej jest w użyciu. Najczęściej jeszcze używają roztworów ałunowych i boraksowych według przepisu Grenacher'a.

a) Karmin ałunowy.

1 g. karminu
5 g. ałunu

rozetrzeć starannie i rozpuścić w 100 ccm. wody wodociągowej gorącej; po rozpuszczeniu gotować 15 minut i po zupełnem ostudzeniu przecedzić przez bibułę.

Barwnik nadaje się do okazów utrwalonych w wyskoku, w formolu, w płynie Müller'a i w płynie Orth'a. Barwi równie dobrze okazy całkowite, jak i skrawki. Po godzinnem barwieniu skrawki są dostatecznie zabarwione, ale mogą bez szkody leżeć w barwniku daleko dłużej, ponieważ przebarwienie nie następuje. Okazy w całości barwią się w ciągu 2 do 8 dni zależnie od wielkości.

Po zabarwieniu należy skrawki opłukać w wodzie i odwodnić wyskokiem dla przeprowadzenia do balsamu kanadyjskiego lub też bez odwodnienia przenieść do gliceryny. Okazy barwione w całości najlepiej zalewać celoidyną.

b) Karmin boraksowy (wodny).

8 g. boraksu
2 g. karminu

rozetrzeć i rozpuścić w 130 ccm. wody przekroplonej. Po 24 godzinach przecedzić.

Powyższy roztwór szczególnie nadaje się do barwienia w całości okazów, utrwalonych w sublimacie. Trzymać w barwniku okazy należy 24 godziny, następnie przez dobę w $\frac{1}{2}$% roztworze kwasu solnego w 70% wyskoku, poczem już można je odwodnić w 95 % wyskoku i przepoić do krajania.

2. *Hematoksylina i hemateina.*

a) *Hematoksylina według Bohmer'a.*

Do 1% roztworu ałunu we wodzie dolewa sie tyle nasyconego roztworu hematoksyliny w wyskoku 95%, żeby mięszanina miała barwę fiołkową (ilości oznaczyć nie można, ponieważ hematoksylina nie jest preparatem stałym).

Przez kilka tygodni roztwór taki musi stać na słońcu w otwartej butelce, poczem dopiero jest zdatny do użytku. Przed barwieniem należy zawsze przecedzić barwnik.

b) *Hematoksylina według Delafield'a.*

4 g. hematoksyliny
25 ccm. wyskoku 96%;

4 dni roztwór ten musi stać w otwartej butelce, poczem dolewa się go do 400 ccm. nasyconego wodnego roztworu ałunu amoniakalnego. Po przecedzeniu mieszaniny dolewa się do niej

100 ccm. gliceryny
i 100 ccm. alkoholu metylowego.

Dwa miesiące płyn powyższy musi stać na słońcu w otwartej butelce, poczem dopiero jest zdatny do użytku (po przefiltrowaniu).

c) *Hemateina ałunowa według Mayer'a.*

1 g. hemateiny rozpuszcza się w 50 ccm. 90% wyskoku (nagrzewać!) i roztwór ten dolewa się do 1 litra 5% roztworu wodnego ałunu. Po przecedzeniu można zaraz barwić tym roztworem.

Wszystkie trzy powyższe mieszaniny barwią szczególnie dobrze okazy utrwalone w wyskoku, formolu lub sublimacie; okazy z płynów, zawierających przetwory chromowe, barwią się trudniej; po kwasie osmowym hematoksyliną ani hemateiną barwić wcale nie można.

Jakkolwiek najczęściej stosowanem bywa barwienie szybkie powyższymi barwnikami (w ciągu kilku minut) i barwienie takie nie jest złe, jednakże chętniej polecilibyśmy rozcieńczanie (0,5 ccm. na 100 ccm. wody zwyklej lub przekroplonej) barwników i trzymanie w rozcieńczonym roztworze 6—24 godzin.

Skrawki po zabarwieniu mają odcień fioletowo-czerwonawy; po wypłukaniu w wodzie wodociągowej (10—15 minut) barwa się zmienia i przechodzi w niebieską.

W dobrze zabarwionych preparatach chromatyna jąder jest ciemno-niebieska, zaródź zaś komórek i inne składowe części tkanek są blado-niebieskie; tylko chrząstka szklista ciemniej się barwi.

Przy użyciu mocnych roztworów łatwo przebarwić skrawki: wtedy pomódz może jedynie przemywanie w podkwaszonej wodzie (1 kropla kwasu solnego na 30 ccm. wody), dopóki nie zjawi się na skrawku czerwonawy odcień zabarwienia. Po przemywaniu w kwasie należy długo opłukiwać okazy we wodzie.

3. *Safranina według Pfitzner'a.*

1 g. safraniny
100 g. wyskoku bezwodnego;

po rozpuszczeniu dodaje się 200 g. wody przekroplonej.

Powyższym roztworem barwi się 24 godziny; preparaty są wtedy przebarwione i nadmiar barwnika należy usunąć przemywaniem w wyskoku bezwodnym.

Dla okazów, utrwalonych w płynie Flemming'a, safranina jest najodpowiedniejszym barwnikiem. Jeśli idzie o wyłączne zabarwienie chromatyny jąder, to zamiast wyskoku czystego, należy użyć do przemywania $\frac{1}{2}\%$ roztworu kwasu solnego w wyskoku.

Ponieważ anilina usuwa ze skrawków wszelkie ślady safraniny unikać jej należy przy przeprowadzaniu skrawków do balsamu kanadyjskiego.

B) Barwienia podwójne

1. *Hematoksylina i eozyna.*

Po zabarwieniu skrawków hematoksyliną (lub hemateiną i opłukaniu w wodzie przenieść do rozcieńczonego wodnego roztworu eozyny (1—3 kropel nasyconego wodnego roztworu eozyny na pół

szklanki wody przekroplonej) na kilka do 24 godzin zależnie od grubości skrawków.

Z przebarwionych w ten sposób skrawków wyciąga się nadmiar eozyny przez opłukiwanie w ciągu 6 do 24 godzin w wodzie przekroplonej, poczem wyskok i anilina mogą być użyte bez obawy zbytniego odbarwienia okazów.

Ta metoda powolnego barwienia słabymi roztworami eozyny daje daleko wyrazistsze preparaty od metody szybkiego barwienia mocnymi roztworami spirytusowymi z następczem odbarwianiem wyskokiem. Ostatniej metody radzimy używać wyłącznie, kiedy zależy na szybkiem wykończeniu dyagnostycznego preparatu; przytem trzeba unikać aniliny, w której okazy łatwo odbarwiają się nadmiernie.

Wynik podwójnego barwienia hematoksyliną i eozyną jest taki, że jądra są niebieskie, zaródź zaś i inne składniki tkankowe nabierają barwy od różowej do błyszcząco-czerwonej.

Stosować można powyższe barwienić w tych samych wypadkach jak i pojedyńcze barwienie hematoksyliną.

2. *Hematoksylina Mallory'ego i kwaśna fuksyna (według Ribbert'a.)*

Utrwalenie okazów dowolne. Podbarwienie skrawków w stężonym wodnym roztworze kwaśnej fuksyny (kilka minut), pogrążenie na $^1/_3$ do 1 minuty w 10% wodnym roztworze kwasu fosforowo-molibdenowego, opłukanie we wodzie, barwienie przez 10 do 20 minut w następującym roztworze Mallory'ego:

hematoksyliny	1 g.
$^1/_2$% wodnego roztworu kwasu fosforowo-molibdenowego	200 g.
kryształów kwasu karbolowego	5 g.

Po zabarwieniu należy opłukać we wodzie, odwodnić w wyskoku i przez ksylol przeprowadzić do balsamu kanadyjskiego.

Przy barwieniu tem szczególnie wyraźnie występują włókna tkanki łącznej (niebieskie).

3. *Safranina i błękit anilinowy (Anilinblau) według Garbiniego.*

Przygotowanie:

błękitu anilinowego (rozpuszczalnego we wodzie) . .	1 g.
wody przekroplonej	100 ccm.
wyskoku bezwodnego	1—2 ccm.

Safranina—według Pfitzner'a (patrz rozdział III § 1 A 3.)

W błękicie barwi się 1—5 minut, następnie — opłukanie we wodzie, odbarwienie (aż do zupełnej prawie utraty błękitnego zabarwienia) w 1% roztworze wodnym amoniaku, podkwaszenie (5—10 minut) w 0,5% wodnym roztworze kwasu solnego, opłukanie we wodzie, barwienie przez 5 minut w safraninie, odwodnienie, ksylol, balsam kanadyjski.

Barwienie nadaje się szczególnie do preparatów, utrwalonych w sublimacie, formalinie lub w wyskoku.

C) Barwienie potrójne.

1. Hematoksylina, kwaśna fuksyna i kwas pikrynowy (według van Gieson'a).

Barwienie w nierozcieńczonej hematoksylinie lub hemateinie— $1/2$ godziny, wypłukanie we wodzie wodociągowej — $1/2$ godziny lub więcej. barwienie w mieszaninie roztworów kwaśnej fuksyny i kwasu pikrynowego (do 100 części nasyconego wodnego roztworu kwasu pikrynowego dodaje się 1 do 3 części nasyconego wodnego roztworu kwaśnej fuksyny. przyczem mieszanina nabiera barwy czerwonej) przez 3—5 minut, szybkie opłukanie w wodzie, odwodnienie wyskokiem bezwodnym, ksylol, balsam.

Barwienie powyższe daje doskonałe różniczkowanie pojedynczych składowych części tkanek; jądra są brunatno-fioletowe, zaródź—żółto-brunatna, tkanka łączna—czerwona, grubsze włókna sprężyste, mięśnie włóknik, śluz, masy rogowe, czerwone krążki krwi — cytrynowo żółte.

2. Barwienie Mallory'ego.

Skrawki z okazów, utrwalonych w płynie Zenker'a i w zwykły sposób zatopionych w parafinie lub zalanych celoidyną, barwi się (z wody) przez 1 do 3 minut w 0,1% wodnym roztworze kwaśnej fuksyny, opłukuje w wodzie, pogrąża na kilka minut do 1% wodnego roztworu kwasu fosforowo-molibdenowego, opłukuje znów w wodzie, barwi przez 10 do 20 minut w roztworze następującym:

błękitu anilinowego (rozpuszczalnego we wodzie)	0,5
orange G	2,0
kwasu szczawiowego	2,0
wody	100,0

Zabarwione skrawki opłukuje się we wodzie, odwodnia w wyskoku i przeprowadza przez ksylol do balsamu.

Włókna tkanki łącznej, amyloid, śluz, substancye szkliste barwią się na niebiesko, jądra, zaródź komórek, włókna sprężyste, cylindry osiowe, włókna neuroglii i włóknik barwią się na czerwono, zaś myelina i czerwone krążki krwi—na żółto.

3. Mieszanina Ehrlich-Biondi-Heidenhain'a.

Z wielu sposobów przygotowywania mieszaniny zieleni metylowej, kwaśnej fuksyny i *Orange G.* najlepszym okazuje się sposób M. Heidenhain'a, który radzi:

20% wodny roztwór kwaśnej fuksyny
8% wodny roztwór *Orange G.*
8% wodny roztwór zieleni metylowej

zmieszać w stosunku 4 : 7 : 8 części.

Do barwienia rozcieńcza się tę mieszaninę w stosunku 1 części na 100 części wody przekroplonej. Przed barwieniem dobrze jest potrzymać skrawki w słabym (2%) roztworze kwasu octowego 1 lub 2 godziny; samo barwienie winno trwać 24 godziny.

Nadmiar barwnika usuwa się przemywaniem w lekko podkwaszonym wyskoku (2—4 kropel kwasu octowego na 100 ccm. wyskoku); odwodnienie w wyskoku bezwodnym, ksylol, balsam.

O ile barwienie się udaje, zróżniczkowanie jest piękne; nie często się ono jednak udaje i dla tego polecać go, jak to czynią niektórzy, jako stałej metody w codziennej praktyce pracownianej nie możemy. Dla celów specyalnych, jak barwienie ziarnistości protoplazmy lub sfer atrakcyjnych przy karyokinezie i t. p. stosowanie tego barwienia może być korzystne; pamiętać wszakże należy, że utrwalenie w sublimacie i nadzwyczajna cienkość preparatów (maximum 5 μ) są zasadniczymi warunkami powodzenia. Dlaczego pomimo przestrzegania tych warunków preparaty rzadko się udają, trudno docieć ponieważ przy jednoczesnem barwieniu w tej samej mieszaninie różnych okazów jedne zostają dobrze zabarwione, inne zaś zupełnie źle.

§ 2. Barwienia specyalne.

Dla uwydatnienia różnych składowych części okazów mikroskopowych współczesna technika posiada już długie szeregi specyalnych metod barwienia; poniżej przytaczamy najważniejsze z nich.

1. Jądra

a) *Sposób Heidenhain'a.*

Utrwalanie w sublimacie; parafina; skrawki nalepione przy pomocy wody.

1) Bajcowanie w 3% wodnym roztworze a l u n u ż e l a z n o - a m o n i a k a l n e g o (podwójna sól siarczanu ammonu i siarczanu tlennika żelaza)—2 do 3 godzin;

2) krótkie płukanie w wodzie wodociągowej;

3) barwienie w ½% wodnym roztworze h e m a t o k s y l i n y - 24 godziny;

4) płukanie w wyżej wymienionym roztworze ałunu żelazno-amoniakalnego—½ do 2 godzin (dopóki zczerniałe w barwniku skrawki nie staną się szaroniebieskawymi i przezroczystymi);

5) płukanie we wodzie;

6) wyskok bezwodny;

7) xylol;

8) balsam.

Niezmiernie wyraźnie występują c e n t r o s o m y i w r z e c i o n a a c h r o m a t y n o w e.

b) *Sposób Flemming'a.*

Utrwalone w p ł y n i e F l e m m i n g'a okazy kraje się w parafinie; nalepione na szkiełkach skrawki barwi się s a f r a n i n ą (patrz wyżej rozdział trzeci, § 1 A 3) 24 godziny, odbarwia wyskokiem podkwaszonym (½% kwasu solnego), odwodnia wyskokiem bezwodnym i przenosi do balsamu przez ksylol.

2. Zaródź.

a) *Sposób Altmann'a.*

1) utrwalenie (24 godziny) w *ex tempore* przygotowanej mieszaninie z równych części

5% wodnego d w u c h r o m i a n u p o t a s u i

2% wodnego k w a s u o s m o w e g o;

2) płukanie w bieżącej wodzie;

3) odwodnienie w wyskoku 75%, 90% i wreszcie w bezwodnym;

4) przeniesienie do mieszaniny 1 części wyskoku bezwodnego i 3 części ksylolu;

5) ksylol;

6) parafina;

7) krajanie (1—2 μ);

8) naklejanie skrawków (patrz. wyżej w rozdziale drugim § 6 metodę Altmann'a naklejania skrawków);

9) ksylol;

10) wyskok;

11) barwienie w 20% roztworu kwaśnej fuksyny w wodzie anilinowej (t. j. w wodzie przekroplonej, nasyconej na zimno aniliną i przefiltrowanej) na szkiełku z nagrzewaniem nad płomieniem aż do parowania barwnika;

12) opłukanie preparatu w roztworze kwasu pikrynowego (1 część nasyconego roztworu kwasu pikrynowego w bezwodnym wyskoku + 2 części wody);

13) powtórne opłukanie świeżym roztworem kwasu pikrynowego z nagrzewaniem przez $^1/_2$ do 1 minuty;

14) opłukanie wyskokiem bezwodnym;

15) ksylol;

16) gęsty balsam kanadyjski.

Metodą tą barwią się na czerwono niektóre ziarnistości protoplasmatyczne, inne części składowe tkanek są szaro żółte.

b) Sposób Kromayer'a.

Utrwalenie w wyskoku, parafina, krajanie (1—2 μ).

1) Barwienie 5 minut w mieszaninie z równych części wody anilinowej (nasycony wodny roztwór aniliny w wodzie przekroplonej starannie cedzony) i nasyconego wodnego roztworu *Methylviolett 6 B*;

2) opłukanie w wodzie;

3) opłukanie przez 1 do 2 minut w płynie Lugol'a (*Jodi puri* 4,0, *Kali jodati* 6,0, *Aq. destillatae* 100,0), rozcieńczonym wodą (1 : 10 wody);

4) opłukanie w wodzie;

5) osuszenie bibułą;

6) różniczkowanie w mieszaninie 1 części aniliny i 2 częśc ksylolu;

7) ksylol;

8) balsam.

Włókna w protoplazmie komórek nabłonkowych barwią się przytem na niebiesko. Można uprzednio podbarwić skrawki karminem alunowym.

3. Włóknik.

a) Sposób Weigert'a.

1) Utrwalenie w wyskoku (można również w formolu lub w sublimacie), zatopienie, krajanie;

2) barwienie przez 10 minut w anilinowej gencyanie, przygotowanej *ex tempore* przez dolewanie nasyconego wyskokowego roztworu *Gentianaviolett* do cedzonego roztworu aniliny we wodzie, aż do pojawienia się metalicznie błyszczącego kożucha na powierzchni płynu;

3) opłukanie w fizyologicznym roztworze soli kuchennej i wysuszenie bibułą;

4) poddanie działaniu płynu Gramm'a (*Jodi* 1,0, *Kali jodat* 2,0, *Aq. dest.* 300,0) przez 1 do 2 minut; wysuszenie bibułą;

5) odbarwienie w mieszaninie 1 części aniliny i 2 części ksylolu, dopóki okazy nie zostaną zupełnie odbarwione (kontrola pod mikroskopem!);

6) ksylol;

7) balsam.

Włóknik będzie zabarwiony na niebiesko, tak samo jak część bakteryj i niektóre jądra komórkowe. Dla uzyskania dobrych kontrastów można uprzednio podbarwić skrawki karminem

b) Sposób Kockel'a.

1) Utrwalenie w dowolnie wybranym płynie utrwalającym; zatopienie w parafinie, krajanie;

2) naklejanie skrawków (możliwie jaknajcieńszych) na szkiełkach przedmiotowych mieszaniną białkowo-glicerynową *), rozpuszczenie parafiny ksylolem, wyskok, woda;

3) 1 do 5% wodny roztwór kwasu chromowego przez 5—10 minut;

4) opłukanie we wodzie (5—20 sekund);

5) barwienie przez 15 do 20 minut w hematoksylinie Weigert'a:

Hematoksyliny	1,0
wyskoku bezwodnego	10,0
wody destylowanej	90,0

---

*) 50,0 białka kurzego, 50,0 gliceryny, 1,0 *Natrii salicylici* zmieszać i przecedzić; trochę mieszaniny zanieść na szkiełko, nałożyć skrawki i nagrzać aż do rozpuszczenia parafiny.

do których dodaje się 1 ccm. stężonego wodnego roztworu węglanu lityny po zupełnem rozpuszczeniu barwnika;

6) opłukanie w wodzie;

7) 10% wodny roztwór ałunu, dopóki skrawki nie nabiorą ciemno-niebieskiej barwy (około 1 minuty);

8) opłukanie we wodzie;

9) różniczkowanie w mieszaninie: boranu sodu 2,0, czerwonego żelazo-cyanku potasu 2,5 i wody 400,0;

10) opłukanie we wodzie;

11) 10% wodny roztwór ałunu przez 1/4 do 1 godziny;

12) opłukanie we wodzie;

13) zabarwienie kontrastowe jąder karminem lub safraniną;

14) odwodnienie, ksylol, balsam.

Jeżeli do utrwalenia użyty był sublimat lub formalina, to przed włożeniem do kwasu chromowego lepiej potrzymać skrawki 5 minut w 5% wodnym roztworze kwasu octowego z następczem starannem opłukaniem w wodzie dla ułatwienia odbarwienia krążków czerwonych w płynie różniczkującym.

Włóknik przy tej metodzie barwi się na kolor ciemno-niebieski.

4. Tłuszcz.

a) Zaczernienie kwasem osmowym

Wszystkie płyny utrwalające, które zawierają kwas osmowy, mogą służyć do wykazania tłuszczu w tkankach, ponieważ kwas osmowy zaczernia tłuszcz i jednocześnie czyni go bardziej opornym na działanie rozpuszczające wyskoku, eteru, chloroformu i t. d.

b) Sposób Daddi'ego z utrwaleniem w płynie Unna'y.

1) Utrwalenie (6—24 godzin) w mieszaninie następującej:

Acidi tannici .	1,0
acidi nitrici . .	0,1
acidi picrici . .	1,0
aq. destillatae	100,0

2) przemywanie w wodzie bieżącej;

3) odwodnienie w wyskoku;

4) celoidyna, krajanie;

5) podbarwienie (5 minut) w hematoksylinie;

6) zróżniczkowanie w podkwaszonym wyskoku (*Acidi hydrochlorici* 1,0 *Alcoholi* 70% — 100,0);

7) opłukanie we wodzie;

8) barwienie (5 minut) w nasyconym roztworze sudanu III w 90% wyskoku;

9) opłukanie we wodzie;

10) konserwowanie w glicerynie albo w mieszaninie gliceryny i agaru (gliceryny—10, agaru wodnego 2%—1).

Jądra barwią sie na niebiesko, tłuszcz—na czerwono.

5. Masy szkliste (hyalina).

a) mieszaniną van Gieson'a barwią się (według Ernst'a) masy szkliste na ciemno-czerwony kolor;

b) przy długotrwałem (24 godziny) barwieniu rozcieńczonymi roztworami eozyny barwią się one również na ciemno-czerwony kolor.

Barwienia powyższe nie są jednakże dość charakterystyczne, ponieważ i inne części składowe tkanek barwią się tak samo.

c) Sposób Pellagatti'ego.

1) Barwienie (5 minut; w 2% wodnym roztworze magenta; opłukanie we wodzie;

2) barwienie (5 minut) w nasyconym roztworze taniny i *Wasserblau* (roztwór gotowy dostarcza procownia Grübler'a w Lipsku); opłukanie we wodzie;

3) wyskok, ksylol, balsam.

Masy szkliste barwią się na czerwono, tkanki na niebiesko.

d) Drugi sposób Pelagatti'ego.

1) Barwienie (1/2 godziny) w hematoksylinie lub hemateinie; opłukanie we wodzie;

2) barwienie (2 minuty) w 2% wodnej safraninie; opłukanie we wodzie;

3) 5 minut w nasyconym wodnym roztworze taniny; opłukanie we wodzie;

4) wyskok, ksylol, balsam.

Masy szkliste barwią się na czerwono, tkanki — fioletowo.

6. Amyloid.

a) Barwienie jodem i kwasem siarczanym.

Świeże albo świeżo utrwalone w wyskoku tkanki kraje się brzytwą od ręki i skrawki barwi się rozcieńczonym płynem Gram'a (1: 3 części wody) przez kilka minut, poczem opłukuje się je starannie we wodzie. Amyloid występuje wtedy jako masa ciemno-brązowa na tle słomkowo-żółtym tkanek niezwyrodniałych. Po zanurzeniu skrawka na 1 minutę do 1% wodnego roztworu kwasu siarczanego brunatny kolor amyloidu przechodzi w niebieski, niebiesko-zielonawy lub fioletowy, podczas kiedy reszta tkanek pozostaje żółtą. Badać można skrawki (po opłukaniu we wodzie) w glicerynie. Niebieszczenie pod wpływem kwasu siarczanego występuje lepiej na świeżych niż na utrwalonych okazach.

b) Barwienie metylwioletem.

1) Barwienie (świeżych lub wyskokowych okazów, krajanych brzytwą) przez kilka minut w 1% roztworze metylwioletu;

2) opłukanie w wodzie lekko podkwaszonej kwasem octowym;

3) opłukanie w wodzie przekroplonej;

4) konserwowanie w octanie potasu pod szkiełkiem pokrywkowem.

Amyloid barwi się na czerwono, tkanki na niebiesko.

c) Barwienie polychromowym błękitem metylenowym (według Schmorl'a).

1) Utrwalenie (najlepiej w wyskoku), zatopienie, krajanie i t. d.;

2) barwienie polychromowym błękitem metylenowym (roztwór gotowy dostarcza pracownia Grübler'a w Lipsku) 10—15 minut;

3) opłukanie we wodzie;

4) zanurzenie na $\frac{1}{4}$ minuty do $\frac{1}{2}$% roztworu wodnego kwasu octowego;

5) płukanie w 5% wodnym roztworze ałunu przez kilka minut;

6) odwodnienie w wyskoku;

7) ksylol i balsam.

Amyloid barwi się na czerwono, tkanki no niebiesko.

7. Glikogen.

a) Sposób Langhans'a.

1) Utrwalenie w wyskoku, zatopienie, krajanie i t. d.;
2) barwienie przez 10 minut w płynie Lugol'a;
3) odwodnienie w mieszaninie z 4 części wyskoku bezwodnego i 1 części nalewki jodowej;
4) prześwietlanie i konserwowanie skrawków w olejku oryganowym.

Glikogen barwi się na kolor brązowy.

b) Sposób Lubarsch'a.

1) Utrwalenie w wyskoku, zatopienie, krajanie i t. d.;
2) barwienie przez 5 minut w przefiltrowanej i zabezpieczonej od dostępu światła mieszaninie:
   2 części hematoksyliny Delafield'a
   1 części płynu Lugol'a
   1 części wody przekroplonej;
3) wyskok bezwodny, ksylol, balsam.

Glikogen barwi się na brązowo, jądra na niebiesko.

8. Śluz.

a) Barwienie safraniną według Steinhaus'a.

1) Utrwalenie, parafina, krajanie i t. d.;
2) podbarwienie ($^1/_2$ minuty) w hematoksylinie Böhmer'a lub Delafield'a;
3) opłukanie (2—5 minut) w wodzie wodociągowej;
3a) zanurzenie na 5 minut do nasyconego wodnego roztworu sublimatu, jeżeli okazy nie były utrwalone w sublimacie;
4) barwienie (15—20 minut) w $^1/_2$ % spirytusowym (45%) roztworze safraniny;
5) odbarwienie wyskokiem;
6) wyskok bezwodny, ksylol, balsam.

Jądra—niebieskie, tkanka jasno-czerwona, śluz—pomarańczowy.

b) Barwienie tioniną według Hoyer'a.

1) Utrwalenie w sublimacie, parafina, krajanie i t. d.;
2) opłukanie ($^1/_2$ minuty) w nasyconym wodnym roztworze sublimatu.

3) opłukanie wyskokiem;

4) barwienie (5—15 minut) w rozcieńczonym roztworze tioniny (2 krople nasyconego wodnego roztworu na 5 ccm. wody przekroplonej);

5) opłukanie wodą;

6) konserwowanie w glicerynie albo

6a) wyskok bezwodny, ksylol. balsam.

Śluz—czerwony, tkanki—niebieskie.

9. Włókna sprężyste.

a). *Sposób Unna'y i Taenzer'a.*

1) Utrwalenie w sublimacie wyskoku lub formolu, parafina i t. d.;

2) barwienie (24 godziny) w mieszaninie, przygotowanej *ex tempore* z równych części roztworów A) i B);

roztwór A)	Orceiny	. . . . .	1,0
	wyskoku 95%	. . . .	200,0
	wody przekroplonej	. .	50,0
roztwór B)	Kwasu solnego	.	1,0
	wyskoku 95%	. . . .	200,0
	wody przekroplonej	.	50,0;

3) odbarwienie w rostworze B);

4) wyskok, ksylol, balsam.

Gdyby mieszanina nie dobrze barwiła, należy dodać kwasu lub też barwnika i wyprobować, przy jakim wzajemnym stosunku składowych części mieszanina dobrze barwi. Odbarwienie powinno być bardzo staranne, żeby nic prócz włókien sprężystych nie zatrzymało barwnika w sobie. Dla oryentowania się w topografii można przed barwieniem orceiną podbarwić jądra na czerwono karminem, albo też po orceinie zabarwić jądra na niebiesko błękitem metylenowym (wodnym roztworem).

Włókna sprężyste barwią się orceiną na kolor ciemno-brązowy.

b) *Sposób Weigert'a.*

1) Utrwalenie dowolne;

2) barwienie (20 minut) w przetworze fuksyny, przyrządzonym w sposób następujący: zagotowuje się roztwór 2,0 fuksyny i 4,0 resorcyny w 200,0 wody, dodaje się 25,0 *liquoris ferri sesquichlorati* i gotuje się przez 3 minuty: po ostudzeniu należy przefiltrować płyn, zebrać osad pozostały na filtrze i w naczyniu, w którem się gotowało, i rozpuścić go w takiej ilości 94% wyskoku, by roztwór zaj-

mował 200 ccm. Otrzymany roztwór trzeba jeszcze raz zagotować, ostudzić, przecedzić i dopełnić do 200 ccm. wyskokiem 94%; wreszcie do płynu dolewa się 4 ccm. kwasu solnego.

3) odbarwienie w wyskoku 95% (gdyby preparat był przebarwiony należy odbarwić wyskokiem, podkwaszonym kwasem solnym);

4) wyskok bezwodny, ksylol, balsam.

Można uprzednio podbarwić jądra karminem. Włókna sprężyste barwią się na kolor bardzo ciemnoniebieski, prawie czarny.

10. Barwniki tkankowe.

Dla wykazania zawartości żelaza w barwnikach służy sposób Perls'a, połączony z podbarwieniem jąder:

1) 5 minut w 2% wodnym roztworze czerwonego żelazocyanku potasu;

2) różniczkowanie w $^1/_2$% roztworze kwasu solnego w glicerynie;

3) opłukanie we wodzie;

4) barwienie karminem alunowym;

5) opłukanie we wodzie;

6) odwodnienie w wyskoku, ksylol, balsam.

Jądra barwią się na czerwono, barwniki, zawierające żelazo — na zielono.

Jeśli tkanki zawierają tak dużo barwnika, że zamaskowana zostaje budowa ich, to można go usunąć sposobem Zimmermann'a w sposób następujący:

Świeże okazy (niezbyt duże) utrwala się w $^1/_2$% roztworze kwasu solnego w wyskoku 96%, w naczyniu zawierającem trochę kryształów chlorku potasu.

Chlor *in statu nascendi* bieli barwniki.

Po odwodnieniu w wyskoku czystym można zatopić w parafinie i barwić okazy wszelkiemi metodami.

11. Komórki tuczne i plazmatyczne.

Barwienie Unna'y, zmienione przez Jadassohn'a i Marschalko, uwydatnia jednocześnie i plazmatyczne i tuczne komórki. Utrwalać należy okazy w wyskoku lub w sublimacie, zatapiać w parafinie i przed barwieniem starannie wypłukać skrawki we wodzie.

Do barwienia używa się albo polychromowego błękitu metylenowego (od Grübler'a z Lipska) albo słabego wodnego roztworu tioniny; barwienie trwa kilka godzin, poczem okazy się

opłukuje we wodzie i odbarwia w wyskoku 70% albo w glicerynowo-eterowej mieszaninie Unna'y (od Grüblera z Lipska) z następczem starannem opłukaniem wodą. Po odbarwieniu odwodnia się wyskokiem i przenosi przy pomocy ksyolu do balsamu.

Jądra komórek plazmatycznych są blado-niebieskie, ich ziarnistość—ciemno niebieska, ziarnistość zaś komórek tucznych czerwona.

12. Krew.

Dla badania suszy się krew na szkiełkach pokrywkowych, utrwala w wyskoku lub mieszaninie wyskoku i eteru (w równych częściach) przez 24 godziny, albo też nagrzewaniem dwugodzinnem na płycie miedzianej do 140°C. i barwi się następującymi sposobami:

a) Sposób Ehrlich'a.

1) Utrwalenie przez nagrzewanie;

2) barwienie (2—5 minut) w mieszaninie Ehrlich'a (*Traicid* Ehrlich'a gotowy u Grüblera w Lipsku);

3) opłukanie we wodzie;

4) wysuszenie, balsam.

Jądra—niebieskie, neutrofilowe ziarna—fioletowe, eozynofilowe—błyszcząco-czerwone, krążki czerwone — pomarańczowe, protoplazma limfocytów—różowa.

b) Sposób Chęcińskiego.

1) 40 części błękitu metylenowego (nasycony roztwór wodny)
20 części eozyny (½ % roztwór w 70% wyskoku)
40 części gliceryny

miesza się i mieszaniną barwi się 24 godziny przy 37°C. (utrwalać najlepiej w wyskoku);

2) opłukanie we wodzie;

3) suszenie, balsam.

Jądra—niebieskie, erytrocyty—czerwone, ziarna eozynofilowe—czerwone, ziarna neutrofilowe—bezbarwne albo słabo czerwone.

c) Sposób Romanowsky'ego.

1 część 1% błękitu metylenowego miesza się przed sa-

mem barwieniem z 4—7 częściami 1‰ roztworu wodnego **e o z y n y** i w mieszaninie barwi się kilka minut przy ciepłocie zwykłej;

2) opłukanie we wodzie;

3) suszenie, balsam.

Wynik barwienia taki sam, jak przy sposobie **C h ę c i ń s k i e g o**, tylko ziarenka neutrofilowe zawsze są zabarwione.

d) Sposób Giemsa'y.

1) 1 część 0,8‰ wodnego **m e t y l e n a z u r u** miesza się z 10 częściami 0,05‰ roztworu wodnego **e o z y n y** *(extrawasserlöslich)*; mieszaniną (za każdym razem świeżo przygotowaną) barwi się ½ do 1 godziny;

2) opłukanie we wodzie;

3) suszenie, balsam.

Te same wyniki, co po mieszaninie **R o m a n o w s k y'e g o**, tylko jądra komórkowe występują lepiej.

Wszystkie wyżej przytoczone sposoby barwienia zasuszonych na szkiełkach okazów krwi mogą być również zastosowane do okazów utrwalonych w sublimacie, wyskoku lub formolu i krajanych w parafinie. Po zabarwieniu, które wtedy trwać musi nieco dłużej—szybkie odwodnienie wyskokiem bezwodnym, potem ksylol i balsam.

13. Układ nerwowy.*)

A. Otoczka rdzenna.

a) Sposób Weigert-Pal'a z barwieniem jąder według Csokor'a.

1) Utrwalenie w **p ł y n i e M ü l l e r a** lub w **p ł y n i e O r t h'a**;

2) odwodnienie w wyskoku (bez płukania we wodzie!);

3) celoidyna, krajanie, przechowywanie skrawków w 80% wyskoku;

4) barwienie (24 godziny) w mieszaninie

h e m a t o k s y l i n y	. . .	1,0
wyskoku bezwodnego	. .	10,0
wody przekroplonej	. . .	90,0
w ę g l a n u l i t y n y	. . .	1,0;

5) płukanie w wodzie, zawierającej 4,0 ccm. nasyconego roztworu **w ę g l a n u l i t y n y** na każde 100,0 ccm.;

---

*) Metody inpregnacyjnej Golgi'ego tutaj nie podajemy, ponieważ w histologii patologicznej nie znajduje ona dotychczas zastosowania.

6) 20—30 sekund w $1/_4$% wodnym roztworze nadmanganianu potasu;

7) kilka sekund w świeżo przygotowanej mieszaninie z równych części

1% wodnego roztworu kwasu szczawiowego
1% wodnego roztworu siarkonu potasu;

8) opłukanie we wodzie;

9) barwienie karminem alunowym;

10) opłukanie we wodzie;

11) wyskok, ksylol, balsam.

Jądra i włókna osiowe—czerwone, otoczka rdzenna—czarna.

b) Sposób Marchi'ego.

1) Utrwalenie cienkich kawałków (do 3 mm. grubości) w płynie Müller'a (8—12 dni);

2) przeniesienie na 6 do 10 dni do świeżo przyrządzonej mieszaniny z równych części płynu Müller'a i 1% wodnego roztworu kwasu osmowego;

3) opłukanie w wodzie bieżącej (24 godziny);

4) wyskok, chloroform, parafina;

5) skrawki grube (50 μ.) nalepia się wodą i bada bez rozpuszczenia parafiny.

Zwyrodniałe otoczki rdzenne — czarne, normalne — żółte.

B, Włókna osiowe.

a) Sposób Ernst'a.

Po utrwaleniu w płynie Müller'a lub w płynie Orth'a i zatopieniu w celoidynie barwi się hematoksyliną i mieszaniną van Gieson'a (patrz wyżej rozdz. trzeci, § 1 C.)

Włókna osiowe — mocno czerwone, otoczki rdzenne—żółte, glia — czerwonawa, jądra — fioletowe.

b) Barwienie nigrozyną.

1) Płyn Müller'a lub Orth'a;

2) celoidyna, krajanie;

3) 10 minut w nasyconym wodnym roztworze nigrozyny;

4) opłukanie we wodzie;

5) wyskok 93%;

6) karbol + ksylol (1 cz. karbolu, 3 części ksylolu);

7) balsam.

Włókna osiowe i glia barwią się na kolor szaroniebieski.

C. *Neuroglia.*

a) *Pierwszy sposób Mallory'ego.*

1) Utrwalenie w 10% formalinie (4 dni przy 37° C);

2) przeniesienie na 4 do 8 dni do nasyconego wodnego roztworu kwasu pikrynowego (przy 37° C);

3) przeniesienie na 4—7 dni do 5% wodnego roztworu dwuchromianu amonu (przy 37°C);

4) wyskok (bez opłukania we wodzie!)

5) celoidyna, krajanie;

6) barwienie:

albo A) sposobem zaleconym dla włóknika przez Weigert'a z odbarwieniem w mieszaninie aniliny i ksylolu w równych częściach, przyczem włókna neuroglii barwią się na kolor ciemno-niebieski:

albo B) rozpuścić 0,1 hematoksyliny w 5,0 gorącej wody, roztwór dolać po ostudzeniu do 100 ccm. 1% roztworu kwasu fosforowowolframowego i w mieszaninie barwić kilka lub nawet 24 godziny, opłukać we wodzie, potem wyskok ksylol i balsam.

Neuroglia i jądra — niebieskie.

b) *Drugi sposób Mallory'ego.*

W ostatnich czasach Mallory wprowadził nowe barwienie neuroglii, mające tę wyższość nad dotychczasowemi, że daje możność odróżniania włókien tkanki łącznej od włókien neuroglii. Przygotowanie okazów jest takie same jak w dawniejszych jego metodach, barwienie zaś następujące:

1) 2—5 minut w 1% wodnym roztworze kwaśnej fuksyny;

2) opłukanie we wodzie;

3) pogrążenie na 1—2 minut do 1% roztworu wodnego kwasu fosforowo-molibdenowego;

4) staranne opłukanie we wodzie;

5) barwienie 3—5 minut w mieszaninie:

błękitu anilinowego wodnego	0,5
orange G.	2,0
kwasu szczawiowego . . .	2,0
wody	100,0

6) woda, wyskok, olejek orygańowy, balsam.

Włókna tkanki łącznej—niebieskie, włókna neuroglii—ciemnoczerwone, cylindry osiowe i komórki nerwowe—jasnoczerwone.

c) Sposób Weigert'a.

1) Utrwalenie w 10% fomalinie (4 dni);

2) bajcowanie (4—5 dni przy 37°C lub 8—10 dni przy ciepłocie pokojowej) w mieszaninie 5,0 octanu tlenku miedzi, 5,0 kwasu octowego, 2,5 ałunu chromowego i 100,0 wody (mieszaninę przyrządza się w ten sposób, że najsamprzód rozpuszcza się ałun chromowy we wodzie i gotuje się w zamkniętym garnku; po zagotowaniu gasi się ogień, dolewa kwas octowy, dosypuje sproszkowanego octanu tlenku miedzi i gotuje się znów, mieszając pałeczką szklaną, dopóki nie nastąpi rozpuszczenie);

3) opłukanie we wodzie, wyskok, celoidyna, przyrządzenie skrawków;

4) redukcya (10 minut w $1/_2$% roztworze nadmanganianu potasu;

5) opłukanie wodą;

6) dalsza redukcya (2—4 godzin) w przefiltrowanym roztworze

5,0 g. chromogenu
5,0 ccm. kwasu mrówkowego
90,0 ccm. wody przekroplonej,

do którego przed użyciem dodać należy jeszcze 11 ccm. 10% roztworu siarkonu sodu;

7) opłukanie we wodzie;

8) podbarwienie (12—24 godzin) w starannie przecedzonym 50% roztworze chromogenu;

9) opłukanie we wodzie i przełożenie (jeśli się nie przystępuje zaraz do barwienia) do mieszaniny 10 ccm. 5% kwasu szczawiowego i 90 ccm. 80% wyskoku; w płynie tym skrawki przechowują się doskonale;

10) przeniesienie skrawków na szkiełka przedmiotowe i osuszenie bibułą;

11) barwienie (kilka sekund) w nasyconym na gorąco roztworze metylwioletu w 70—80% wyskoku z dodatkiem 5 ccm. 5% wodnego roztworu kwasu szczawiowego na każde 100 ccm. barwnika;

12) osuszenie bibułą;

13) opłukanie szybkie nasyconym roztworem jodu w 5% roztworze wodnym jodku potasu;

14) osuszenie bibułą;
15) różniczkowanie w mieszaninie równych części aniliny i ksylolu;
16) staranne opłukanie ksylolem, balsam.
Neuroglia i jądra barwią się na niebiesko.

D. Komórki nerwowe.

***Barwienie sposobem Nissl'a**, zmodyfikowanym przez **Held'a**.*

1) Utrwalenie (24 godziny) w mieszaninie kwasu pikrynowego i siarczanego (wody 100 ccm., kwasu siarczanego 2,0 ccm., kwasu pikrynowego 0,25 g.);
2) opłukanie w wodzie;
3) wyskok stopniowo wzrastającego stężenia począwszy od 20%;
4) ksylol, parafina, krajanie;
5) barwienie (1—2 minut) w roztworze

erytrozyny	1,0
wody przekroplonej . . .	150,0
Acidi acetici glacialis . . .	2 krople

z lekiem nagrzewaniem;
6) opłukanie we wodzie;
7) barwienie w mieszaninie równych części 5% wodnego roztworu acetonu i błękitu metylenowego Nissl'a (*Methylenblau B. pat.* 3,75, mydła weneckiego 1,75, wody przekroplonej 100,0) na gorąco (dopóki nie zniknie zapach acetonu);
8) ostudzenie, różniczkowanie w 1‰ wodnym roztworze ałunu, dopóki czerwone zabarwienie skrawka znów nie wystąpi;
9) opłukanie we wodzie, wyskok, ksylol, roztwór kalafonii w benzynie (zamiast balsamu).

Grudki Nissl'a niebieskie, zaródź pomiędzy niemi — czerwona. Barwienie udaje się również po utrwaleniu w wyskoku bezwodnym.

14. Bakterye.

A. Badanie bakteryj w płynach.

Jeśli płyn jest dość gęsty, wystarcza przenieść kroplę na szkiełko, przeczekać aż wyschnie i następnie utrwalić wysuszone bakterye (i inne znajdujące się w płynie składniki morfologiczne) trzykrotnem wolnem przeprowadzeniem szkiełka przez płomień palnika Bunzena. Jeśli w płynie składników morfologicznych bardzo mało, należy cen-

tryfugą zebrać osad na dnie epruwetki i przenieść go w małej ilości fizyologicznego roztworu soli kuchennej na szkiełka; dalsze postępowanie będzie takie same, jak wyżej. Zbyt gęste zaś płyny (gęsta ropa i t. d.) można rozrzedzić fizyologicznym roztworem. Zawsze należy dążyć do tego, żeby po wysuszeniu warstwa na szkiełku była bardzo cienka i równomierna.

Utrwalone przez nagrzanie okazy mogą być natychmiast po wystudzeniu barwione.

Do barwienia używa się słabych wodnych roztworów barwników anilinowych jak błękit metylenowy, gencyanawiolet bismarkbraun, fuksyna i t. p.; najwygodniej mieć w zapasie stężone wyskokowe roztwory tych barwników i w razie potrzeby dolewać kilka kropel jednego z tych roztworów do szklanki wody przekroplonej. Trudniej barwiące się bakterye można barwić roztworami wyżej przytoczonych barwników w wodzie anilinowej albo karbolowej (5% roztwór karbolu we wodzie). Dobre wyniki daje również roztwór błękitu metylenowego w słabym ługu potasowym według następującej formuły (według Löffler'a):

stężonego wyskokowego roztworu
błękitu metylenowego . . 30,0
0,01% wodnego rozworu ługu potasowego . . . . 100,0.

Po kilku minutach każdy z tych barwników dostatecznie przeniknie do ciała bakteryj; wtedy należy tylko opłukać szkiełko we wodzie i wysuszyć je. Jeśli okaz był przyrządzony na szkiełku pokrywkowem, to nakłada się je (warstwą zabarwioną zwróconą ku dołowi), na szkiełko przedmiotowe na kroplę balsamu; jeśli zaś na przedmiotowem, to można badać pod mikroskopem soczewkami immerzyjnemi bez pokrycia szkiełkiem pokrywkowem i bez balsamu.

Korzystając z własności pewnych bakteryj zatrzymywanie w sobie barwników pomimo traktowania środkami odbarwiającymi, podczas kiedy inne mniej lub bardziej szybko się odbarwiają, można odróżniać niektóre bakterye od innych już przy badaniu mikroskopowem pomimo braku różnic morfologicznych.

Najważniejsze zastosowanie znalazły te własności przy rozpoznawaniu laseczników gruźliczych. Z bardzo licznych sposobów różniczkowego barwienia laseczników gruźliczych przytoczymy tutaj następujące, jako najpewniejsze i najdogodniejsze.

a). 1) Barwienie (5—10 minut) z nagrzewaniem w karbolowej fuksynie (fuksyny 1,0, wyskoku 10,0, kwasu karbolowego 5,0, wody przekroplonej 100,0);

2) odbarwianie w 3% roztworze kwasu solnego w wyskoku (dopóki okaz nie będzie bezbarwnym);
3) opłukanie we wodzie;
4) podbarwienie błękitem metylenowym;
5) opłukanie we wodzie;
6) wysuszenie.

b). 1) Barwienie karbolową fuksyną (15 minut bez nagrzewania), osuszenie bibułą;
2) zanurzenie w 2% roztworze kwasu solnego w anilinie (na kilka sekund);
3) odbarwienie w wyskoku;
4) opłukanie w wodzie;
5) podbarwienie błękitem metylenowym;
6) opłukanie we wodzie;
7) wysuszenie.

c). 1) Barwienie karbolową fuksyną (jak wyżej);
2) opłukanie we wodzie;
3) barwienie w 2% roztworze błękitu metylenowego w 25% wodnym roztworze kwasu siarczanego (1 minutę);
4) opłukanie we wodzie;
5) wysuszenie.

Przy wszystkich powyższych sposobach barwienia laseczniki gruźlicze zabarwione są na czerwono, inne drobnoustroje, komórki i t. d. — na niebiesko.

Traktowanie jodem po zabarwieniu jest również środkiem rozpoznawczym — pewne drobnoustroje odbarwiają się po zastosowaniu roztworu jodu z łatwością wyskokiem, inne zaś nie tracą zabarwienia. Metoda ta, wynaleziona przez Gram'a, stosuje się w sposób następujący:

1) Barwienie (3—5 minut) w anilinowem gencyanawiolet;
2) opłukanie we wodzie;
3) zanurzenie na 1—$1\frac{1}{2}$ minuty do roztworu Gram'a (*Iodi* 1,0, *Kali jodati* 2,0, *Aq. destillatae* 300,0);
4) odbarwienie w wyskoku;
5) opłukanie we wodzie;
6) podbarwienie słabym roztworem fuksyny lub bismarkbraun;

7) opłukanie we wodzie;
8) wysuszenie.

Drobnoustroje nietracące barwnika pod działaniem jodu, będą zabarwione na kolor fioletowy, inne zaś na czerwono (fuksyna) lub brązowo (b i s m a r k b r a u n).

Do cech charakterystycznych dla niektórych drobnoustrojów należą o t o c z k i, barwiące się znacznie trudniej od ciała bakteryj. Dla ich uwidocznienia podaje F r i e d l a e n d e r sposób następujący:

1) Zanurzenie na 1—3 minut w 1% roztworze k w a s u o c t o w e g o (*Ac. acet. glac.*);
2) Zabarwienie krótkie w mieszaninie

stężonego wyskokowego roztworu g e n c y a n a w i o l e t	50,0
wody przekroplonej	100,0
Ac. acetici glacialis	10,0;

3) zróżniczkowanie w 1% wodnym roztworze kwasu octowego;
4) opłukanie we wodzie, wysuszenie.

Bakterye będą ciemnofioletowe, ich otoczki nieco jaśniejsze.

Prostszy sposób, dający również dobre wyniki, wymyślił I c i l i o: polega on na zastąpieniu wody, służącej do rozpuszczania barwników, bulionem, płynem przesiękowym lub mieszaniną 1 cz. białka kurzego, 50 cz. gliceryny i 1 kropli formaliny.

Dla uwidocznienia z a r o d n i k ó w w lasecznikach służą te same sposoby, które wyżej podaliśmy dla laseczników gruźliczych. Zarodniki barwią się, tak samo jak laseczniki gruźlicze, na czerwono, ciało bakteryj zaś — na niebiesko.

B. Badanie bakteryj w tkankach.

Utrwalanie okazów, w których poszukiwać chcemy bakteryj, winno odbywać się w wyskoku, w sublimacie lub w formalinie. Okazy z p ł y n u M ü l l e r'a nie nadają się do tego rodzaju poszukiwań; obecność wszakże p ł y n u M ü l l e r'a w mieszaninie utrwalającej nie przeszkadza, o ile w skład jej wchodzi również formalina lub sublimat.

Najpraktyczniejsze jest zatopienie w parafinie, ponieważ celoidyna barwi się bardzo mocno barwnikami anilinowymi, tak samo jak bakterye, i przeszkadza przy badaniu.

Ze sposobów barwienia, które nadają się do uwidocznienia większości drobnoustrojów w tkankach, przytoczymy tutaj następujące:

a) Sposób Löffler'a.

1) Barwienie w błękicie metylenowym Löffler'a (patrz str. 44) po opłukaniu skrawków w wodzie:
2) zanurzenie na 10 sekund do 1% kwasu octowego;
3) wyskok, ksylol, balsam.

b) Sposób Boeck'a

1) Barwienie w roztworze błękitu metylenowego według Sahli'ego, (5%-owego roztworu wodnego boraksu 16, nasyconego wodnego roztworu błękitu metylenowego 20, wody przekroplonej 24);
2) opłukanie we wodzie;
3) wyskok, ksylol, balsam.

c) Sposób Pfeiffer'a.

1) Barwienie (1/2 godziny) w rozcieńczonym roztworze fuksyny karbolowej (1:20 wody);
2) opłukanie w wodzie padkwaszonej zlekka kwasem octowym (dopóki skrawek nie nabierze barwy szarofioletowej);
3) wyskok, ksylol, balsam.

Dla zróżniczkowania laseczników gruźliczych użyć można tych samych sposobów, które wyżej podaliśmy, opisując badanie bakteryj w płynach, z tą tylko różnicą, że po barwieniu i opłukaniu we wodzie nie należy suszyć skrawków, lecz trzeba odwodnić je w wyskoku i opłukać w ksylolu dla konserwowania w balsamie.

Nadto polecić możemy następujący sposób.
1) Barwienie hematoksyliną;
2) opłukanie w wodzie wodociągowej:
3) barwienie (15 minut) w karbolowej fuksynie;
4) osuszenie bibułą szwedzką;
5) zanurzenie w 2% roztworze kwasu solnego w anilinie (na kilka sekund);
6) odbarwienie w wyskoku;
7) opłukanie we wodzie;
8) barwienie w słabym wodnym roztworze aurancyi;
9) opłukanie we wodzie;
10) wyskok, ksylol, balsam.

Jądra—fioletowe, laseczniki gruźlicze — czerwone, zaródź, czerwone krążki, tkanka — żółte.

Barwienie skrawków sposobem Gram'a odbywa się tak samo, jak okazów zasuszonych na szkiełkach tylko, że zamiast następnego podbarwienia barwnikiem anilinowym stosuje się uprzednie barwienie jąder komórkowych karminem ałunowym lub innym, a po skończonem odbarwieniu w wyskoku opłukuje się skrawki ksylolem dla przeprowadzenia do balsamu.

PRACE

LABORATORYUM ANATOMII PATOLOGICZNEJ SZPITALA ŻYDOWSKIEGO W WARSZAWIE

Wydawane przez

JULIANA STEINHAUSA,

zarządzającego pracownią,

przy współudziale Kasy Pomocy dla osób pracujących na polu naukowem imienia Dr med. Józefa Mianowskiego.

Zeszyt 3.

Z 25 tablicami światłodrukowemi.

WARSZAWA

DRUK PIOTRA LASKAUERA I S-KI.

1906.

Najważniejsze omyłki drukarskie.

W części pierwszej.

Str.	wiersz:		wydrukowano:	powinno być:
5	17	od góry	wyraźniej	wyraźniej, niż
6	4	„	take	takie
11	2	„	octowego	osmowego
24	18	„	4 dni roztwór ten musi stać w otwartej butelce, poczem i t. d. do wyrazów „dolewa się do niej“	roztwór ten dolewa się do 400 ccm. nasyconego wodnego roztworu ałunu amoniakalnego. Po 4 dniach dolewa się do mieszaniny
42	16	„	minut	minut)
42	26	„	50%	5%

W części drugiej.

Str.	wiersz:		wydrukowano:	powinno być:
56	18	od góry	zastawki	(zastawki
59	4	od dołu	*priopriae*	*propriae*
80	4	„	neurotrofilowe	neutrofilowe
103	3	od góry	§	§ 5
119	9	„	(*Chondroma*	(*Chondroma*)
119	21	„	tej	też
123	8	„	*synchondrsois*	*synchondrosis*
139	11	„	tak iż	a
157	9	„	kouolami	kuolami
157	5	od dołu	ich	światła
158	12	„	wyrazicielem	wyrazem
162	10	„	nych	nych,